UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

CAMPYLOBACTER SPP., *SALMONELLA ENTERICA*, *ESCHERICHIA COLI* E *LISTERIA MONOCYTOGENES* EM ABATEDOUROS DE FRANGOS DO ESTADO DE SÃO PAULO: OCORRÊNCIA, AVALIAÇÃO DE DIAGNÓSTICO, RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E PRESENÇA DE GENES DE VIRULÊNCIA

Greice Filomena Zanatta
Biomédica

2026

Lombada

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

CAMPYLOBACTER SPP., *SALMONELLA ENTERICA*, *ESCHERICHIA COLI* E *LISTERIA MONOCYTOGENES* EM ABATEDOUROS DE FRANGOS DO ESTADO DE SÃO PAULO: OCORRÊNCIA, AVALIAÇÃO DE DIAGNÓSTICO, RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E PRESENÇA DE GENES DE VIRULÊNCIA

Greice Filomena Zanatta
Orientador: Prof. Dr. Oliveiro de Freitas Caetano Neto
Co-Orientadora: Profa. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca

Tese apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em
Ciências Veterinárias, Área de
Saúde Única

2026

Z27c

Zanatta, Greice Filomena

Campylobacter spp., Salmonella enterica, Escherichia coli e Listeria monocytogenes em abatedouros de frangos do Estado de São Paulo: ocorrência, avaliação de diagnóstico, resistência aos antimicrobianos e presença de genes de virulência / Greice Filomena Zanatta. -- Jaboticabal, 2026

173 p. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Oliveiro Caetano De Freitas Neto

Coorientadora: Belchiolina Beatriz Fonseca

1. Microbiologia. 2. Antimicrobianos. 3. Genes de virulência. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* em ABATEDOUROS DE FRANGOS DO ESTADO DE SÃO PAULO: OCORRÊNCIA, AVALIAÇÃO DE DIAGNÓSTICO, RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E PRESENÇA DE GENES DE VIRULÊNCIA

AUTORA: GREICE FILOMENA ZANATTA
ORIENTADOR: OLIVEIRO CAETANO DE FREITAS NETOCOORIENTADORA: BELCHIOLINA BEATRIZ FONSECA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Veterinárias, área: Saúde Única pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br
OLIVEIRO CAETANO DE FREITAS NETO
Data: 14/04/2026 14:55:32-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. OLIVEIRO CAETANO DE FREITAS NETO (Participaçao Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva / Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Belo Horizonte/MG

Documento assinado digitalmente
gov.br
ELIANA SCARCELLI PINHEIRO
Data: 11/04/2026 08:33:42-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Pesquisadora Dra. ELIANA SCARCELLI PINHEIRO (Participaçao Virtual)
Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal / São Paulo/SP

Documento assinado digitalmente
gov.br
LUISA ZANOLLI MORENO
Data: 11/04/2026 12:22:38-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. LUISA ZANOLLI MORENO (Participaçao Presencial)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br
CELSO JOSE BRUNO DE OLIVEIRA
Data: 11/04/2026 07:51:50-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. CELSO JOSÉ BRUNO DE OLIVEIRA (Participaçao Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal da Paraíba (UFPB) - Areia/PB

Documento assinado digitalmente
gov.br
ANDREY PEREIRA LAGE
Data: 14/04/2026 11:07:59-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Professor Doutor ANDREY PEREIRA LAGE (Participaçao Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva / Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Belo Horizonte/MG

Jaboticabal, 10 de fevereiro de 2026.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Greice Filomena Zanatta é pesquisadora científica do Instituto Biológico desde 2005. Possui graduação em Ciências Biológicas – Modalidade Médica (Biomedicina) pelo Centro Universitário Barão de Mauá (2000) e mestrado em Microbiologia Agropecuária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, câmpus de Jaboticabal (2011). Atualmente, é doutoranda no programa de Ciências Veterinárias – Saúde Única, na mesma instituição e câmpus.

Em sua trajetória profissional, acumula ampla experiência nas áreas de diagnóstico avícola e Microbiologia, com ênfase em Microbiologia de Alimentos. Sua atuação concentra-se em bacteriologia, dedicando-se principalmente ao estudo dos patógenos *Salmonella* enterica, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli e Listeria spp.* Paralelamente às atividades de pesquisa, atua na gerência da qualidade laboratorial da instituição.

“A Beleza da Vida está nos olhos de quem a vê ...”

Khalil Gibran

Dedicatórias...

A Deus, Universo de Harmonia, que me sustenta em todas as jornadas da minha Vida!

Aos meus Ancestrais (paternos e maternos), minha força vem de vocês! Honro-te!!

AGRADECIMENTOS

Durante a realização desta pesquisa, contamos com a valiosa colaboração de diversas pessoas e entidades, cujas contribuições foram essenciais para alcançarmos nossos objetivos.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos, pelo apoio incondicional, incentivo e carinho, em especial:

A Deus por não me desamparar e fortalecer-me nos momentos que me sentia abatida.

A Santa Filomena – minha celestial madrinha por ser minha defesa

Aos meus pais, minha fortaleza, meu aprendizado do Amor incondicional

A minha afilhada amada, que traz alegrias para minha vida e minha inspiração de ser e fazer sempre o melhor

A minha queridíssima amiga, prima-irmã Lu, por todas as broncas e risadas, pelo verdadeiro significado de companheirismo

Ao meu amor, pelo carinho, incentivo...

A Bruna, Luciana e Laís por me ajudarem tanto, por serem meu apoio, de maneira prática e no emocional, pelos ensinamentos compartilhados

A Ana Maria, diretora, amiga, conselheira, por todas as conversas, por todo apoio, por todas as “chamadas de atenção”, por toda paciência e por acreditar que seria possível

Ao Renato, pesquisador, colega, amigo, pelas recomendações, aconselhamentos e incentivos

Aos meus orientadores Oliveiro e Bia, pela dedicação, pela paciência, pela disposição em compartilhar seus inúmeros conhecimentos

Aos meus amigos que estiveram sempre me incentivando e acreditando nessa realização

A amiga Renata, dádiva que a pesquisa me apresentou

Ao amigo Cezar, pela paciência e toda ajuda nessa trajetória

As queridas Mariangela Manfredini e Patrícia Babadopulos, pelo incentivo, pelo apoio, por todo carinho durante esse percurso

A toda equipe do laboratório do Instituto Biológico - Diasa, por estarem sempre dispostos a me ajudar, sem todo esse apoio prático, essa pesquisa não seria uma realidade

Ao Dr. Ricardo Harakava Diretor técnico do Serviço Laboratorial de Referência em Biologia Molecular Aplicada e a toda equipe

A todas as empresas que autorizaram a realizar as coletas, sem essa parceria não poderíamos realizar nosso estudo

A Stabivet Diagnósticos pela doação dos kits de biologia molecular - Kilt®

A Fundepag pelo apoio financeiro

A todos que de alguma maneira permitiram a realização desse estudo, que benção sejam derramadas!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais 1
1. Introdução 1
2. Revisão de literatura 4
2.1 *Campylobacter* spp. 4
2.2 *Salmonella* enterica 19
2.3 *Escherichia coli* 28
2.3 *Listeria* spp. 35
3. Objetivos 42
3.1 Objetivos gerais 42
3.2. Objetivos específicos 42
4. Referências 44
CAPÍTULO 2 - Comparação entre a microbiologia convencional e metodologias de PCR em Tempo Real para a Detecção de *Campylobacter* spp. em amostras de abatedouros de frangos de corte 94
1. Introdução 95
2. Materiais e métodos 97
2.1 Amostras para avaliação de desempenho 97
2.2 Procedimentos bacteriológicos para avaliação de desempenho 97
2.3 Amostras para pesquisa de *Campylobacter* spp 99
2.3.1Coleta de Amostras 99
2.3.2 Procedimentos bacteriológicos para pesquisa de *Campylobacter* spp 99
2.3.3 Amostras para detecção molecular 100
2.3.4 Detecção por PCR multiplex em tempo real de *Campylobacter* spp 100
2.4 Análise estatística 100
3. Resultados e discussão 101
4. Conclusão 107
5. Referências 108
CAPÍTULO 3 - Detecção de *Campylobacter* spp em Abatedouros Avícolas: Prevalência e Sequeciamento dos Genes de Virulência (cst*II* e Neu*A*) 116
1.Introdução 117
2.Materiais e Métodos 118
2.1 Amostras 118
2.2 Extração de DNA e Detecção de *Campylobacter jejuni*, *C. coli* e *C. lari* 118
2.3 Detecção de genes de virulência 119

2.4 Sequenciamento Sanger e Análises de Bioinformática.....119
3. Resultados e Discussão.....**120**
3.1 Detecção de *Campylobacter jejuni, C. coli* e *C. lari*.....120
3.2 Detecção de genes de virulência.....121
3.3 Sequenciamento Sanger e Análises de Bioinformática.....121
4. Conclusão.....**131**
5. Referências.....**131**
CAPÍTULO 4 - Occurrence of Foodborne Pathogens and Monitoring of Antimicrobial Resistance in Broiler Chicken Brazilian Slaughterhouses.....**136**
1. Introduction.....**137**
2. Materials and Methods.....**138**
2.1 Experimental design.....138
2.2 Sampling collection location and procedures.....138
2.2.1 *Salmonella enterica* isolation and identification.....139
2.2.2 *Escherichia coli* identification.....139
2.2.3 Listeria monocytogenes identification.....140
2.3 Antimicrobial susceptibility test.....140
3. Results and Discussion.....**140**
3.1. Pathogens occurrence.....140
3.2. Antimicrobial susceptibility.....142
4. Conclusion.....**145**
5. References.....**145**
Conclusão.....**155**

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" Câmpus de Jaboticabal

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Perfis moleculares e de resistência antimicrobiana de isolados de *Campylobacter* spp. recuperados de granjas de frangos de corte e abatedouros do estado de São Paulo - Brasil"**, protocolo nº 9552/22, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Oliveiro Caetano de Freitas Neto, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 14 de dezembro de 2022.

Vigência do Projeto	10/01/2023 a 06/01/2025
Espécie / Linhagem	*Gallus gallus*
Nº de animais	150
Peso / Idade	2 a 4 kg – 0 a 45 dias
Sexo	Fêmeas e machos
Origem	Granjas comerciais do Estado de SP

Jaboticabal, 14 de dezembro de 2022

Fabiana Pilarski

Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209-7100 - www.fcav.unesp.br

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CDC – Centers for Disease Control and Prevention

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura

IN – Instrução Normativa

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

OMS – Organização Mundial da Saúde

OMSA – Organização Mundial da Saúde Animal

PNUMA – Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente

RAM – Resistência Antimicrobiana

RASFF – Sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Ração (Rapid Alert System for Food and Feed)

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada (da ANVISA)

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde (Ministério da Saúde)

UFC – Unidade Formadora de Colônia

VBNC – Células Viáveis Não Cultiváveis (*Viable But Non-Culturable*)

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1. Protocolos de isolamento de *Campylobacter* jejuni IAL 1330, baseados na ISO 10272-1:2017 Procedimentos A e B, em matrizes contaminadas artificialmente 98
Tabela 2. Resultados de recuperação de Campylobacter jejuni IAL 1330 em matrizes contaminadas artificialmente e analisadas conforme os protocolos descritos, baseados na ISO 10272-1:2017 Procedimentos A e B 102
Tabela 3. Detecção de Campylobacter spp. por PCR e isolamento bacteriológico (ISL) nos três abatedouros avícolas 103
Tabela 4. Resultados das comparações dos métodos de detecção 103
Tabela 5. Associação entre o número de amostras positivas e negativas para PCR nas análises pré e pós incubação 104
Tabela 6. Determinações positivas de Campylobacter spp por detecção molecular (qPCR) antes (pré) e após (pós) incubação em caldo de enriquecimento, nos locais amostrados nos três abatedouros avícolas 105

Capítulo 3

Tabela 1. Sequências de primers com alvo nos genes de virulência 119
Tabela 2. Detecções moleculares de Campylobacter jejuni e Campylobacter coli em três abatedouros avícolas comerciais, por agrupamento das 163 amostras positivas representativas das categorias "chegada", "ambiente" e "produto final (PF)" 121

Capítulo 4

Tabela 1. Details of the collection points of poultry industry samples 150
Tabela 2. Frequency of Salmonella enterica, Escherichia coli, and Listeria monocytogenes in samples collected from three broiler chicken slaughterhouses 151
Tabela 3. Salmonella enterica serotypes distribution at different processing stages in the three sampling slaughterhouses 152
Tabela 4. Antimicrobial resistance profiles of Salmonella enterica isolates recovered from poultry slaughterhouses 153
Tabela 5. Antimicrobial resistance profiles of Escherichia coli serotypes recovered from poultry slaughterhouses 154

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figura 1. *Heat map* mostrando os resultados positivos pela PCR e microbiologia convencional por abatedouro e por tipo de amostra. 104

Capítulo 3

Figura 1. Árvore filogenética baseada na sequência de nucleotídeos do gene cstII, gerada por *Maximum Likelihood*, utilizando o modelo tamura 3-paramenter, baseadas em 317 posições e 20 sequências. As sequências obtidas nesse estudo estão marcadas de vermelho. 122
Figura 2. Árvore filogenética baseada na sequência de aminoácidos do gene cstII, gerada por *Maximum Likelihood*, utilizando o modelo Le Gascuel 2008, baseadas em 102 posições e 20 sequências. As sequências obtidas nesse estudo estão marcadas de vermelho. 123
Figura 3. Árvore filogenética baseada na sequência de nucleotídeos do gene neua, gerada por *Maximum Likelihood*, utilizando o modelo tamura 3-paramenter, baseadas em 357 posições e 36 sequências. As sequências obtidas nesse estudo estão marcadas de vermelho. 124
Figura 4. Árvore filogenética baseada na sequência de aminoácidos do gene neua, gerada por *Maximum Likelihood*, utilizando o modelo Le Gascuel 2008 model, baseadas em 118 posições e 36 sequências. As sequências obtidas nesse estudo estão marcadas de vermelho. 125

CAMPYLOBACTER SPP., *SALMONELLA ENTERICA*, *ESCHERICHIA COLI* E *LISTERIA MONOCYTOGENES* EM ABATEDOUROS DE FRANGOS DO ESTADO DE SÃO PAULO: OCORRÊNCIA, AVALIAÇÃO DE DIAGNÓSTICO, RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E PRESENÇA DE GENES DE VIRULÊNCIA

RESUMO

A contaminação de carnes de aves é uma preocupação crescente em saúde pública, especialmente devido à presença de patógenos como *Campylobacter* spp, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*. Esses microrganismos são responsáveis por uma série de infecções gastrointestinais que podem afetar gravemente a saúde dos consumidores. *Campylobacter* spp. afeta mais de dois milhões de pessoas anualmente. Normalmente, a doença provoca diarreia, cólicas e febre em humanos acometidos. Em alguns casos, no entanto, a infecção pode desencadear complicações como a síndrome de Guillain-Barré, uma doença inflamatória aguda de origem autoimune na qual o sistema nervoso periférico é comprometido, resultando em paralisia muscular. *Salmonella* spp. é conhecida por causar salmonelose, uma infecção que pode ser particularmente perigosa para crianças, idosos e pessoas com o sistema imunológico comprometido. *Listeria monocytogenes*, embora menos comum, é uma bactéria que pode ser fatal, especialmente em gestantes, recém-nascidos e indivíduos imunocomprometidos. A listeriose pode levar à meningite e septicemia. *Escherichia coli*, especialmente as cepas patogênicas, pode causar desde diarreia leve até complicações graves, como a síndrome hemolítico-urêmica. Estudos direcionados à detecção e identificação dessas espécies na cadeia produtiva do frango de corte, bem como avaliação dos perfis moleculares e de resistência antimicrobiana, são necessários, pois permitiriam uma melhor caracterização desse potencial perigo para a saúde pública. O presente estudo foi realizado em várias plantas de abate, onde amostras de carcaças, equipamentos e superfícies de contato foram coletadas e analisadas. Os métodos de detecção incluíram técnicas microbiológicas convencionais e métodos moleculares, como a PCR em tempo real, para identificação dos patógenos. Os resultados demonstraram uma ocorrência variada dos patógenos entre as diferentes plantas. Os dados obtidos ressaltam a importância de implementar medidas eficazes de controle de patógenos nas plantas de abate, visando reduzir a contaminação e, consequentemente, o risco de infecções alimentares. Este estudo contribui para o entendimento da dinâmica de contaminação em diferentes ambientes de processamento de aves e enfatiza a necessidade de monitoramento contínuo e de adoção de medidas higiênico-sanitárias para melhorar a qualidade microbiológica dos produtos de origem avícola.

Palavras-chaves: *Campylobacter* spp.; *Salmonella* enterica; *Listeria monocytogenes*; *Escherichia coli*, segurança alimentar; monitoramento microbiológico.

CAMPYLOBACTER SPP., *SALMONELLA ENTERICA*, *ESCHERICHIA COLI* AND *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN CHICKEN SLAUGHTERHOUSES IN THE STATE OF SÃO PAULO: OCCURRENCE, DIAGNOSTIC EVALUATION, ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND PRESENCE OF VIRULENCE GENES

ABSTRACT

Poultry meat contamination is a growing public health concern, especially due to the presence of pathogens such as *Campylobacter* spp., *Salmonella* enterica, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli*. These microorganisms are responsible for a number of gastrointestinal infections that can seriously affect the health of consumers. *Campylobacter* spp. affects more than two million people annually. Typically, the disease causes diarrhea, cramps, and fever in affected humans. In some cases, however, the infection can trigger complications such as Guillain-Barré syndrome, an acute inflammatory disease of autoimmune origin in which the peripheral nervous system is compromised, resulting in muscle paralysis. *Salmonella* spp. is known to cause salmonellosis, an infection that can be particularly dangerous for children, the elderly, and people with compromised immune systems.
Listeria monocytogenes, although less common, is a bacterium that can be fatal, especially in pregnant women, newborns, and immunocompromised individuals. Listeriosis can lead to meningitis and septicemia. *Escherichia coli*, especially pathogenic strains, can cause anything from mild diarrhea to severe complications such as hemolytic-uremic syndrome. Studies aimed at detecting and identifying these species in the broiler chicken production chain, as well as evaluating molecular profiles and antimicrobial resistance, are necessary, as they would allow for a better characterization of this potential public health hazard. This study was conducted in several slaughterhouses, where carcass, equipment, and contact surface samples were collected and analyzed. Detection methods included conventional microbiological techniques and molecular methods, such as real-time PCR, for pathogen identification. The results demonstrated a varying frequency of pathogens among the different plants. The data obtained highlight the importance of implementing effective pathogen control measures in slaughterhouses, aiming to reduce contamination and, consequently, the risk of foodborne infections. This study contributes to the understanding of contamination dynamics in different poultry processing environments and emphasizes the need for continuous monitoring and the adoption of hygienic and sanitary measures to improve the microbiological quality of poultry products.

Keywords: *Campylobacter* spp.; *Salmonella* enterica; *Listeria monocytogenes*; *Escherichia coli*; food safety; microbiological monitoring

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1. Introdução

A cadeia produtiva de frango de corte consolida-se como um dos pilares mais dinâmicos e estratégicos do agronegócio global, destacando-se pela sua eficiência e capacidade de atender à crescente demanda por proteína animal. No cenário internacional, o Brasil ocupa uma posição de liderança, sendo o segundo maior produtor mundial e o maior exportador do setor (ABPA, 2024). Essa competitividade é sustentada por um modelo produtivo que integra excelência genética, adoção rigorosa de protocolos de biosseguridade e um sistemático controle de sanidade dos plantéis, garantindo a qualidade e a segurança dos produtos e subprodutos destinados ao mercado interno e internacional.

Paralelamente, a carne de frango consolidou-se como a proteína animal mais consumida no planeta**.** Em 2023, o consumo global foi estimado em aproximadamente 102 milhões de toneladas (FAO, 2024), refletindo sua acessibilidade, versatilidade e aceitação cultural. Nesse contexto, a qualidade higiênico-sanitária no processamento avícola transcende a mera conformidade regulatória, constituindo-se em um imperativo de saúde pública (EFSA, 2020).

Os produtos de origem avícola constituem um veículo potencial para a transmissão de patógenos de grande relevância em saúde pública, destacando-se *Campylobacter jejuni***,** *Escherichia coli* patogênica e *Salmonella* enterica. Diante desse risco, o controle microbiológico rigoroso em toda a cadeia produtiva tornou-se um pilar fundamental para a indústria, especialmente porque a associação entre esses patógenos e surtos de doenças de origem alimentar tem sido amplamente documentada e evidenciada em pesquisas (Heredia e García 2018).

Para ser eficaz, a garantia da qualidade e segurança da carne avícola não podem se restringir à análise do produto final. É imperativo que a avaliação ocorra de forma integrada em todas as etapas do processamento, desde o recebimento da ave viva até o abate (Rodrigues et al., 2008).

Na avicultura brasileira, há uma lacuna significativa no monitoramento de patógenos emergentes. Apesar da importância econômica do setor, há poucos dados sobre a ocorrência de *Campylobacter* spp. na cadeia produtiva do frango e sobre casos de campilobacteriose humana no país (Gomes et al., 2019; Mendonça et al.,

2015). Mesmo com avanços regulatórios como a Instrução Normativa nº 60/2019 da ANVISA que estabelece critérios microbiológicos para alimentos, o *Campylobacter* não integra a lista de notificação obrigatória. Consequentemente, sua real frequência e distribuição permanecem pouco conhecidas, representando uma incógnita para a segurança alimentar (Facuri, 2018).

Em contraponto, outro patógeno, a *Salmonella* enterica, já é reconhecido como um risco consolidado à saúde pública e à economia do setor. Em um contexto de produção globalizada, sua presença não apenas representa um perigo potencial à população (Espinazo-Erosa et al., 2015), como também pode ocasionar sérias perdas econômicas, impactando diretamente as exportações de produtos avícolas brasileiros. Diante desse duplo desafio, sanitário e comercial, o controle de *Salmonella* enterica é formalmente regulamentado no Brasil por meio de normativas do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), coordenado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que estabelece diretrizes para o monitoramento e a gestão do risco em toda a cadeia produtiva.

Além dos patógenos tradicionalmente monitorados, a bactéria *Escherichia coli* representa um desafio singular e multifacetado para a segurança dos alimentos de origem avícola. Diferente de *Salmonella* enterica e *Campylobacter* spp. a *E. coli* compreende uma vasta diversidade de cepas, a maioria comensal e inofensiva, que convive no trato intestinal das aves. No entanto, determinados grupos patogênicos apresentam riscos distintos, causando grave preocupação de saúde pública (EFSA, 2022; Kapperud et al., 2018;), como sérias perdas zootécnicas na produção de aves (Nolan et al., 2020).

A carne de frango é reconhecida como um potencial veículo de transmissão de cepas patogênicas de *E. coli* para humanos, principalmente devido à contaminação fecal durante o abate (Van Altena et al., 2016). No Brasil, Instrução Normativa MAPA nº 161/2022 e as alterações trazidas pela IN nº 313, estabelecem critérios para *E. coli* como indicador de contaminação fecal e de higiene do processo**,** sem diferenciar cepas patogênicas das comensais. Esta abordagem, embora fundamental para o controle geral de qualidade, não visa especificamente a detecção de variantes patogênicas de relevância em saúde pública (MAPA 2022; MAPA 2024).

Complementando o espectro de riscos microbiológicos, *Listeria monocytogenes* destaca-se como um patógeno de relevância crítica para a segurança dos alimentos**,** especialmente em produtos de origem animal prontos para o consumo (EFSA, 2025).

Por isso, o monitoramento ambiental sistemático de *L. monocytogenes* é reconhecido como um pilar fundamental para a inocuidade dos alimentos (GSO CAC, GL 61, 2008), sendo uma prática relevante não apenas para a saúde pública, mas também para a conformidade da cadeia produtiva brasileira com os exigentes padrões do comércio internacional. No Brasil a IN nº 161/2022 e IN nº 313**,** é o principal regulamento técnico, definindo os limites máximos permitidos de *L. monocytogenes* em carnes e produtos cárneos (MAPA 2022; MAPA 2024).

Diante da importância estratégica do setor avícola para a economia nacional, o controle efetivo dos perigos microbiológicos configura-se como um imperativo tanto de saúde pública quanto de sustentabilidade comercial. A ocorrência de patógenos como *Salmonella* enterica, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* patogênicas e *Listeria monocytogenes* representa barreiras sanitárias, frequentemente associadas a notificações e rejeições de cargas nos mercados internacionais, com prejuízos diretos à competitividade do setor (Martins e Monteiro, 2024). Este cenário, somado às lacunas de conhecimento sobre a real prevalência e diversidade de alguns desses agentes no país, reforça a necessidade de uma vigilância integrada e permanente ao longo de toda a cadeia produtiva.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a dinâmica de contaminação por patógenos de importância em saúde pública *Salmonella* enterica., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, no processo de abate de frangos de corte. Com isso, busca-se identificar pontos críticos e gerar subsídios para a implementação de medidas de controle mais eficazes na indústria avícola e compreender a prevalência e diversidade de patógenos, contribuindo para melhorar a vigilância e a qualidade microbiológica da carne de frango.

2. Revisão de literatura

2.1 *Campylobacter* spp.

O gênero *Campylobacter* engloba 32 espécies e 13 subespécies (Euzéby, 2009), sendo que mamíferos e aves são considerados reservatórios naturais. São bacilos gram-negativos, não esporulados, sensíveis ao oxigênio, microaerófilos, requerendo de 3 a 5% de oxigênio e de 2 a 10% de dióxido de carbono (Damas e Marassi, 2010), não hemolíticos, oxidase e catalase positivos, urease negativos. São curvos em forma de vírgula, “S”, asa de gaivota ou espiral. Suas dimensões variam entre 0,2 a 0,9 µm de largura por 0,5 a 5 µm de comprimento (Vliet e Ketley, 2001; Humprey, 2007; Nachamkin, 2007). Algumas espécies de *Campylobacter* são flageladas com um único flagelo polar ou bipolar como *C. jejuni, C. coli, C. concisus* e *C. showae*, enquanto *C. hominis* e *C. ureolyticus* não possuem flagelo (Man, 2011). *C. jejuni, C. coli* e *C. lari,* dos quais, *C. jejuni é* responsável por 90-95% das gastroenterites bacterianas e com maior potencial patogênico do ponto de vista da segurança alimentar (Zilbauer *et al*., 2008; Bronzwaer *et al*., 2009; EFSA, 2024).

A infecção por *Campylobacter* spp. é zoonose de distribuição mundial, com graves repercussões para saúde pública e com impacto socioeconômico significativo. A campilobacteriose é uma das zoonoses mais frequentemente notificadas na União Europeia. De acordo com o relatório anual sobre zoonoses publicado pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), em 2023 foram notificados 148.181 casos de campilobacteriose, um aumento em relação aos 139.225 casos registados em 2022 (EFSA, 2024).

Estudos epidemiológicos relatam que a carne de frango é a principal fonte de veiculação de *Campylobacter* spp. para humanos (Oh *et al*., 2015; Prachantasena *et al*., 2016). A contaminação da carne de frango por patógenos configura-se como um sério problema para a saúde pública, pois resulta em internações, redução de produtividade de trabalhadores, aumento de custos com tratamentos e, até mesmo, em morte (Mead, 2004).

Em decorrência de algumas características do gênero, incluindo a necessidade de condições especiais de cultivo e o baixo número de células dispersas na microbiota complexa, a sua detecção é dificultosa (Silva *et al*., 2014). Inúmeras variações dos métodos microbiológicos convencionais, tais como técnicas de cultura seletiva

incluindo passagem por membrana filtrante e centrifugação ou associação destas técnicas vêm sendo utilizadas para o isolamento de *Campylobacter* spp. (Bolton *et al*., 1988; ACMSF, 2010; ISO, 2006; Bolton *et al*., 1988; Speegle *et al.*, 2009).

Devido ao pequeno tamanho de seu genoma (1600 Kb a 1700 Kb), as vias metabólicas são limitadas, ocasionando a multiplicação lenta da *Campylobacter* spp. sendo considerado uma bactéria fastidiosa. O fato de possuir o genoma pequeno também reflete no menor número de genes que bactérias do gênero *Campylobacter* apresentam em comparação com outros microrganismos patogênicos (Bhunia, 2008; Vandamme, 2000).

Em 2006, a Organização Internacional de Padronização (ISO) publicou os protocolos ISO 10272 para a detecção e enumeração de *Campylobacter* spp. em alimentos destinados a humanos e consumo animal. A parte 1 do protocolo (ISO 10272-1) descreve a detecção de *Campylobacter* spp. após enriquecimento seletivo enxágue de carcaça de aves (método de enriquecimento). Enquanto que a parte 2 (ISO 10272-2) descreve a detecção e contagem de colônias de *Campylobacter* spp. antes do enriquecimento seletivo (método direto) (ISO, 2017)

Os métodos convencionais, além de laboriosos, exigem vários dias para a análise completa. Aliado a isso, muitas vezes a presença de microbiota competitiva inibe o crescimento de *Campylobacter* spp., podendo levar a resultados falso-negativos (Willian *et al*., 2009). Métodos moleculares como o da reação em cadeia da polimerase (PCR) ajudam a mitigar esses problemas, pois são mais rápidos e possuem maior sensibilidade que o cultivo padrão.

A PCR pode ser combinada ao método convencional de cultivo para acelerar o processo e melhorar a detecção e identificação de *Campylobacter* spp. (Zhang, 2008). Devido à complexidade na diferenciação bioquímica das espécies de *Campylobacter*, principalmente entre *C. jejuni* e *C. coli*, métodos genotípicos, como o sequenciamento dos genes do rRNA e análise de polimorfismo dos tamanhos dos fragmentos gerados por restrição enzimática (PCR-RFLP), têm sido bem adotados (Debruyne *et al*., 2008).

Devido à diversidade de genótipos de *Campylobacter* spp. em razão da instabilidade genética intrínseca, a escolha do método mais adequado de tipagem é um desafio (Wassenaar e Newell, 2000). A genotipagem de *Campylobacter* spp. explora diferenças em sequências de DNA entre os diferentes isolados, sendo

imprescindíveis em alguns estudos epidemiológicos (Ge *et al*., 2006; Wassenaar & Newell, 2000).

A variabilidade genética dos microrganismos pode ser decorrente de mutações e de recombinação genética. As mutações podem ocorrer naturalmente ou por indução, por meio de substituições, inserções, deleções ou inversões de bases nitrogenadas que resultam em alterações no material genético (Seliwiorstow *et al*., 2016). A recombinação ocorre de quatro formas, sendo elas transformação, conjugação, transdução e transposição (Ellerbroek *et al*., 2010; Kashoma *et al*., 2014). *Campylobacter* spp. possui elementos genéticos móveis, como os plasmídeos, bacteriófagos e os elementos genéticos transponíveis como as sequências de inserção (IS) e transposons (Klein-Jöbst *et al*., 2016).

Fatores estressantes podem fazer com que *Campylobacter* spp. assuma a forma viável, mas não cultivável (VBNC) a qual mantém sua capacidade infectante para os seres humanos (Nachamkin, 2007). Alguns patógenos transmitidos por alimentos retêm virulência após entrarem no estado VBNC, o que pode ser devido à sua rápida ressuscitação em células cultiváveis sob certas condições (Li et al., 2014), resultando em uma séria ameaça à saúde humana. (Zhao et al., 2017). As VBNC possuem uma estrutura de membrana completa que garante que a informação genética não seja perdida (Lahtinen et al., 2008).

Do ponto de vista epidemiológico e considerando a importância de *Campylobacter* termotolerantes, como patógeno para o ser humano, a diferenciação molecular dos isolados é importante, pois permite uma melhor caracterização epidemiológica nos surtos e identificação de estirpes mais virulentas e resistentes aos antimicrobianos (Engberg, 2006; Wiedmann, 2002). Análises contemplando informações genéticas mais detalhadas podem ainda fornecer subsídios para estudar a evolução genética das estirpes, traçar sua cadeia epidemiológica, além permitir avaliar as interações com o hospedeiro e melhorar estratégias de controle (Duarte *et al*., 2014).

No Brasil ainda não há uma legislação direcionada ao controle de *Campylobacter* spp. No entanto, há uma tendência de que essas bactérias tornem-se barreira sanitária para comercialização de carne de frango. Portanto, estudos focados na ampliação e aperfeiçoamento da detecção e identificação de espécies de

Campylobacter spp. na cadeia produtiva do frango de corte, bem como na avaliação dos perfis moleculares e de resistência aos antimicrobianos são necessários e poderiam contribuir de maneira relevante para a compreensão e controle desses patógenos.

2.1.1 *Campylobacter* spp. em aves

O genêro *Campylobacter* encontra-se distribuído mundialmente, em especial nas aves, sendo os frangos de corte considerados reservatórios naturais e primários desse patógeno, sendo, na maioria, portadores assintomáticos (Abu-Madi *et al*., 2016; EFSA, 2018; WHO, 2018;). Acredita-se que essas bactérias estejam presentes em mais de 90% das galinhas, em 100% dos perus e 88% dos patos domésticos (Balian, 2009).

Para a avicultura, as duas espécies mais importantes são *Campylobacter coli* e *Campylobacter jejuni. C. coli* ocorre predominantemente em aves e suínos e é relatada em seres humanos e outros animais (Genigeorgis, 1987; Varnam & Evans, 1991). *C. jejuni* é amplamente distribuído no trato gastrointestinal de mamíferos, aves domésticas e selvagens (Oosterom, 1994; Zorman & Možina, 2002). Uma outra espécie ainda, *Campylobacter hepaticus*, tem sido implicada em quadros de hepatites em poedeiras (Van et al., 2016).

A carne de frango é a principal fonte de *Campylobacter* spp. para o ser humano homem (Sheppard et al., 2009; Sadek et al., 2023). Estima-se que, direta ou indiretamente, a ingestão e a manipulação desse alimento podem estar ligadas a 80% dos casos de campilobacteriose humana (Vellinga *et al*., 2002; Strachan e Forbes, 2010; Meunier et al., 2021). Esse patógeno pode ser encontrado em diferentes etapas da cadeia de produção de aves (Melero *et al*., 2012).

Campylobacter spp. é ubíquo e pode ser encontrado em diferentes fontes ambientais, a contaminação de frangos de corte pode ocorrer por várias formas. Por exemplo, a presença de animais selvagens, outros animais de produção nas proximidades, roedores e moscas representam potenciais fontes de contaminação em lotes de frangos de corte (Hermans et al., 2012). As moscas agem como um vetor mecânico, e sua abundância no verão pode ser uma explicação para a maior prevalência do agente nesse período (Allain et al., 2014).

A transmissão de *Campylobacter* spp. nos plantéis avícolas pode ocorrer principalmente de forma horizontal, sobretudo através do contato com água contaminada, fezes, aves selvagens, roedores e tratadores. A transmissão vertical tem sido alvo de vários estudos, mas a possibilidade de contágio através de ovos contaminados, têm tido questionada e parece ser pouco provável (Bull et al., 2006; Fonseca et al., 2011)

O transporte das aves para o abatedouro também eleva o risco de transmissão e disseminação de *Campylobacter* spp. nos plantéis avícolas. Esse procedimento aumenta o estresse das aves, diminuindo a resistência e tornando-as mais susceptíveis. Aliado a isso, estudos comprovam que a infecção por *Campylobacter* spp. aumenta durante o transporte, pois há defecação e maior eliminação do micro-organismo, contaminando penas, pele e caixas de transporte, favorecendo a disseminação do agente (Gabriel, 2010).

A contaminação da carne de ave, pode ocorrer ao longo de toda a cadeia, quer diretamente ou indiretamente por contaminação cruzada, constituindo um grave risco à saúde humana (Ellis-Iversen *et al*., 2009). Essa contaminação depende de diversas variáveis, incluindo a idade das aves, o nível de contaminação dos lotes e a influência de fatores relacionados com a produção, transporte e processamento. A determinação do nível de contaminação na carne de frango tem implicações na saúde pública, sendo fundamental a existência de uma rastreabilidade nas aves vivas, nas carcaças e nos seus derivados (Kuana *et al*., 2008).

Apesar do número de células viáveis de *Campylobacter* spp. diminuir substancialmente após o processamento, refrigeração ou congelamento, porém há o risco de contaminação cruzada durante a manipulação de carne de frango crua, que pode transferir o patógeno para alimentos prontos para consumo, como vegetais crus (saladas) (Stern et al., 2007; Mohammadpour et al., 2018). Uma vez introduzido na linha de abate, esse agente pode disseminar por todas as etapas de processamento, contaminando o produto final (Melero et al., 2012). Estudos de tipagem molecular já demonstraram a presença de genótipos persistentes desde a granja até a carcaça de frango destinada ao comércio (Damjanova et al., 2011; Melero et al., 2012; Gruntar et al., 2015).

De acordo com Rosenquist et al. (2006), o gerenciamento do patógeno na granja é a etapa mais crítica no controle da campilobacteriose. Ao focar na identificação das fontes de contaminação e em medidas de biosseguridade, é possível reduzir significativamente a prevalência de *Campylobacter* nos frangos de corte, diminuindo o risco de contaminação cruzada no abatedouro e, por fim, protegendo a saúde pública.

O Brasil se destaca como um dos líderes mundiais na produção e exportação de carne de frango, um sucesso atribuído ao alto nível tecnológico e à adesão a rigorosas normas sanitárias nacionais e internacionais (ABPA, 2024; BRASIL, 2018). Apesar desse avanço, a indústria enfrenta desafios sanitários contínuos, como o monitoramento e a mitigação de bactérias zoonóticas. Dentre elas, *Campylobacter* spp. representa uma preocupação significativa, com estudos demonstrando sua presença persistente ao longo da cadeia produtiva no país (Cruz et al., 2021; Kuchiishi et al., 2022)

Além disso, estudos demonstram a presença de *Campylobacter* spp. no setor avícola brasileiro, tanto nas aves quanto nas carcaças e na carne, evidenciando a importância de esforços para o seu monitoramento e controle, com intuito de manter a segurança e a qualidade dos produtos (Bortoli et al., 2017; Gomes et al., 2018; DE Oliveira et al., 2019; Proietti et al., 2020).

2.1.2 Importância em saúde pública

Infecções por *Campylobacter* spp. constituem em zoonose de distribuição mundial, causando infecções alimentares, sendo a gastroenterite o sinal clínico mais comum (Altekruse, 1999; Zhao *et al*., 2001; Kaakoush *et al*., 2015). Tais infecções geram prejuízos à saúde pública e impactos socioeconômicos significativos (EFSA, 2016). Em alguns casos a campilobacteriose pode ocasionar sequelas severas associadas à polineuropatia desmielinizante inflamatória aguda, denominada síndrome de Guillian-Barré (Allos, 1998; Duim *et al*., 2000). Nestes casos, uma resposta imune exacerbada induz lesões no sistema nervoso periférico, causando paralisia muscular. Outra complicação autoimune, que pode ser observada em decorrência da infecção por *C. jejuni*, é a artrite reativa que ocorre em 2% dos casos (Silva *et al*., 2014).

C. jejuni e *C. coli* são as principais causas das gastroenterites de origem bacteriana em humanos (Butzler, 2004; Kaakoush *et al*., 2015), sendo *C. jejuni* o mais patogênico e mais frequente nos surtos (Niederer *et al*., 2011; Barbour *et al*., 2012;), relacionado ao consumo de produtos avícolas contaminados (Vetchapitak e Misawa, 2019).

Atualmente, não há evidências de que *C. hepaticus* seja um agente zoonótico. Em frangos de corte e poedeiras, esse patógeno causa lesões hepáticas, a Síndrome do Fígado Gorduroso e Hemorrágico (SLD) (Grimes e Reece, 2011; Jenning *et al*., 2011). Devido o fígado ser um produto consumido, principalmente nafoma de patê, e também por essa espécie ser filogeneticamente próximo de espécies de *Campylobacter* comprovadamente zoonóticas, como *C. jejuni* e *C. coli,* há preocupação com um possível risco para a saúde pública (Moffaff *et al.*, 2016; Crawshaw, 2019).

Nas quatro últimas décadas, *Campylobacter* spp. ganhou destaque como etiologia emergente nas gastrenterites de origem alimentar em várias partes do mundo (Butzler, 2004, EFSA, 2024). *Campylobacter* spp. foi documentado em 2019 como a maior causa de doenças alimentares causadas pelo consumo de produtos de origem animal em todo o mundo (Li *et al*., 2019). No Brasil, há subnotificação dos casos mas, em países desenvolvidos, as enterites por *Campylobacter* spp. são mais frequentes que as provocadas por *Salmonella* spp. (WHO, 2025)

No Brasil, não há registro da identificação de *Campylobacter* spp. em nenhum surto alimentar nos últimos anos de acordo com dados oficiais do Serviço de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS-MS) (Frazão et al., 2017; Silva et al., 2018; MS, 2025). Esse micro-organismo aparece citado nos relatórios de surtos ocorridos entre os anos de 2000 a 2011, onde é indicado como responsável por três deles (BRASIL, 2012). Apesar da falta de registros no SVS-MS, pesquisas têm demonstrado que é alta a incidência em carcaças de frangos brasileiros (Melo et al., 2019; Wurfel et al., 2019).

As legislações do Ministério da Saúde que regulamenta alimentos, IN nº 161/2022 e IN nº 313, (MAPA 2022; MAPA 2024);não preconiza a análise de *Campylobacter* spp. em nenhum grupo de alimentos.

A redução da contaminação por *Campylobacter* spp. em produtos avícolas é vista como uma técnica eficaz para reduzir o impacto da campilobacteriose na saúde pública humana, visto que o frango é a principal fonte desta zoonose (Hankel et al., 2022).

2.1.3 Informações a respeito de *Campylobacter* spp. no Brasil

Apesar da importância do gênero *Campylobacter*, os estudos epidemiológicos e de avaliação de risco são recentes no Brasil, e não há padrões legais ainda estabelecidos para sua presença ou enumeração em alimentos (IN 60 de 23/12/2019), nem existe uma legislação específica para a análise de *Campylobacter* spp. (Mendonça *et al.,* 2015). No entanto, o Ministério da Agricultura conduziu, entre julho de 2017 e julho de 2018, um programa exploratório para monitorar *Campylobacter* spp. em carne de frango (BRASIL, 2016). É de extrema importância que sejam realizadas pesquisas nesse campo, pois elas se tornam absolutamente essenciais no Brasil, dada a posição de destaque que a indústria brasileira de frangos ocupa no mercado global (Melo et al., 2019).

Diversos estudos têm investigado a presença de *Campylobacter* em diferentes etapas da cadeia de produção de frango de corte. Franchin et al. (2005) analisaram aves de diferentes produtores dentro da mesma integração e observaram que 91,7% dos lotes estavam positivos antes do abate. Já Cortez et al. (2006) identificaram *C. jejuni* em 4,9% das amostras coletadas em diferentes pontos da linha de abate, enquanto Franchin et al. (2007) encontraram positividade para *Campylobacter* em 71,3% das amostras analisadas que incluíam 335 carcaças resfriadas, água e equipamentos ao longo da linha de produção.

Em Minas Gerais, Caruzo (2010) analisou 70 swabs de carcaças coletados após os tanques de resfriamento em um frigorífico sob fiscalização do IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária), encontrando uma frequência de *Campylobacter* de 27%, sendo que 4% dessas amostras foram caracterizadas como *C. jejuni*. Em outro estudo na mesma região, Azeredo et al. (2010) relataram isolamento superior a 27% em swabs de carcaças após o resfriamento em frigoríficos com inspeção estadual.

No estado de Goiás, Minafra-Rezende et al. (2011), ao analisarem carcaças e moelas provenientes de abatedouros, encontraram taxas de 66,70% e 11,11% de

Campylobacter spp., respectivamente. Perdoncini et al. (2015), no sul do Brasil, observaram que 37,1% das carcaças analisadas após refrigeração por imersão estavam positivas para Campylobacter termofílicos.

Já Melo (2012) isolou *Campylobacter* spp. de 22,38% das 420 carcaças de frango resfriadas e congeladas de três estados diferentes, frequência menor do que aquela encontrada por Kuana et al. (2008), que obteve 99% de resultados positivos em carcaças resfriadas. Em um estudo mais recente, Melo et al. (2019) relataram que, após o acondicionamento em frigoríficos brasileiros, apenas 9,25% das carcaças analisadas foram consideradas positivas para *C. jejuni*, indicando uma redução na contaminação ao longo do processamento.

No estudo realizado por Borges et al. (2020), em três estabelecimentos, foi constatado que as aves já chegam contaminadas ao matadouro e que a contaminação pode aumentar durante o processo de abate devido à contaminação cruzada. No método microbiológico convencional, 69,4% (75 de 108) das amostras foram positivas, enquanto na metodologia molecular essa frequência foi de 43,5% (47 de 108).

Esses estudos demonstram a variabilidade na prevalência de *Campylobacter* em diferentes pontos da cadeia de produção, destacando a importância do controle e monitoramento contínuo para garantir a segurança dos produtos.

Diversos países importadores de carnes de frangos do Brasil possuem eficientes sistemas de vigilância e monitoramento dos principais patógenos transmitidos pelos alimentos, entre os mais conhecidos estão o International Food Safety Authorities Network (INFOSAN - WHO), Reportable Food Registry (RFR) nos Estados Unidos, Global Public Health Intelligence Network (GPHIN) no Canadá e o RASFF na União Européia (EC- RASFF, 2025).

O RASFF, emite alertas sobre a detecção de micro-organismos que apresentam potencial risco a saúde pública, indicando o país importador e exportador, alimento incriminado e nível de medidas a serem tomadas baseado no risco (Van Der Spiegel et al., 2012; Piglowski, 2020).

Em 23 de agosto de 2017, a Comissão Europeia publicou o Regulamento (CE) 1495/2017, que entrou em vigor em 2018. Esse documento compila as últimas publicações sobre *Campylobacter* desde 2004 e disponibiliza informações epidemiológicas, além da preconização de exigências para importação. Estabelece

também que os critérios para controle de *Campylobacter*, deverão seguir as mesmas recomendações já adotadas para o controle de *Salmonella.* O padrão estabelecido para *Campylobacter* foi de no máximo 1000 UFC/g (EU, 2017). Ainda nesse regulamento é estabelecido que o método indicado para detecção d *Campylobacter* é a norma internacional ISO 10272-2.

Diante dessas questões, o MAPA criou a Portaria SDA nº 17/2013 em conjunto com a Comissão Científica Consultiva em Microbiologia de Produtos de Origem Animal com o objetivo de aumentar a segurança alimentar. Toda a carne de frango exportada para os países europeus deve obedecer às normas descritas nos Regulamentos da União Europeia, que inclui o controle de *Campylobacter* (BRASIL, 2013; Melo et al., 2019).

2.1.4 Resistência aos antimicrobianos em *Campylobacter* spp.

A resistência aos antimicrobianos em *Campylobacter* spp. está se tornando cada vez mais comum devido à sua capacidade de desenvolver diversos mecanismos de resistência, que afetam sua eficácia, levantando grandes preocupações com a saúde (Tacconelli et al., 2018). Como um patógeno zoonótico, a resistência aos antimicrobianos entre isolados animais tem graves implicações para o tratamento de campilobacteriose em seres humanos (Moore et al., 2006).

A campilobacteriose geralmente é uma infecção autolimitante e, na maioria dos casos, os pacientes se recuperam sem necessidade de tratamento (Silva et al., 2011). No entanto, em situações mais graves, especialmente em grupos vulneráveis como jovens, idosos e pessoas com o sistema imunológico comprometido, pode ser recomendado o uso de terapias específicas para assegurar recuperação (PacanowskI et al., 2008; Taha-Abdelaziz et al., 2023).

Os antimicrobianos tiveram um impacto positivo na prevenção e no tratamento de doenças infecciosas na medicina humana e veterinária, devido à sua capacidade de eliminar bactérias nocivas (Qin et al., 2023). No entanto, seu uso excessivo na produção animal, seja na terapia ou na profilaxia de doenças e principalmente como aditivos melhoradores de desempenho (Deckert et al., 2010; Bardon et al., 2011; Etiene et al., 2025), resultou no aumento de bactérias resistentes a antimicrobianos transmitidas por alimentos, como o *Campylobacter* spp. (Wintersdorff et al., 2016).

Essa resistência representa uma ameaça séria à eficácia das terapias antibióticas e levanta importantes preocupações de saúde pública (Van Boeckel et al., 2015; Khan et al., 2018; García-Sánchez et al., 2019).

Isolados de *Campylobacter* originados de variadas fontes, incluindo de aves, têm apresentado multiresistência (Szczeapanska *et al*., 2017; Du *et al*., 2018; Montgomery *et al*., 2018). No Brasil, foi relatada elevada frequência de isolados de *Campylobacter* spp. recuperados de carcaças e frangos resistentes a fluorquinolonas e tetraciclinas (Paravisi, 2017).

Dados mundiais descrevem que isolados de *Campylobacter* spp. de diversas origens apresentam frequências variadas de resistência às diferentes classes de antimicrobianos (FDA, 2019; EFSA, 2023; OMS, 2024). Tanto em países em desenvolvimento como nos desenvolvidos, isolados de *Campylobacter* spp. resistentes a diversos antibióticos, incluindo fluoroquinolonas, macrolídeos, tetraciclinas, vancomicina, trimetoprima, rifampicina e bacitracina têm sido relatados (Wimalarathna et al., 2013; Melo et al., 2017; Tang et al., 2017; Vizzini et al., 2021; Myintzaw et al., 2023).

A adaptabilidade genética do gênero *Campylobacter*, decorrente de sua alta plasticidade genômica, permite a rápida aquisição e incorporação de genes de resistência de outras bactérias (Munita e Arias, 2016), contribuindo significativamente para sua capacidade de adquirir e disseminar resistência (Bundurus et al., 2024). A aquisição dos genes de resistência por uma bactéria pode ser por meio de mecanismos de transferência horizontal, como conjugação, transformação e transdução (Jeon et al.; 2010), provenientes outras bactérias na microbiota intestinal de animais ou humanos, tornando-a altamente adaptável e seletiva à pressão (Portes et al., 2023).

O uso generalizado de fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina, na avicultura tem sido fortemente associado ao surgimento de isolados de *Campylobacter* spp. resistentes a essa classe de medicamento, complicando o tratamento de infecções humanas (Wieczorek e Osek, 2013; Nothaft et al., 2021). Consequentemente, as fluoroquinolonas, que antes eram a primeira escolha no tratamento campilobacteriose humana, foram substituídas pelos macrolídeos, que são os medicamentos mais recomendados atualmente (Iovine, 2013; Gorain et al., 2020).

Macrolídeos e quinolonas têm sido muito utilizados na medicina veterinária e há uma preocupação de que o uso contínuo dessas classes eleve a prevalência de *Campylobacter* spp. resistentes em produtos alimentares de origem animal e, consequentemente, em humanos (Mccrakin *et al.*, 2016).

A crescente preocupação com a transmissão de bactérias resistentes de animais para humanos consolidou a abordagem de “Saúde Única” como o pilar da resposta global. Essa mobilização é liderada pela Aliança Quadripartite (OMS, OMSA, FAO e PNUMA), cujo plano de ação conjunto visa integrar a saúde humana, animal e ambiental para combater ameaças como a resistência antimicrobiana (FAO et al., 2022). Para operacionalizar essa visão, foram criadas ferramentas de governança e vigilância, incluindo o sistema global de dados da OMS (WHO, 2023) e as diretrizes do Codex Alimentarius, que estabelecem padrões para o monitoramento e contenção da resistência antimicrobiana em toda a cadeia produtiva de alimentos (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2021; 2023).

2.1.5 Fatores de Virulência

Para um microrganismo infectar e provocar doença no hospedeiro é necessário possuir fatores de virulência que podem ser componentes estruturais ou toxinas (Fernandez, 2008).

Na patogênese da campilobacteriose, há vários fatores de virulência envolvidos na colonização intestinal do hospedeiro, incluindo motilidade, quimiotaxia, adesão, invasão e produção de determinadas toxinas (enterotoxinas e citotoxinas) para causar doença e evadir do sistema imune (García-Sanchez et al., 2018; Johnson, 2018; Oliveira et al., 2019).

O gênero *Campylobacter* possui a capacidade de sobreviver aos estresses fisiológicos, como à acidez do estômago e à alcalinidade dos sais biliares, além do estresse oxidativo e do limitado fornecimento de nutrientes (Du et al., 2016). Este patógeno exibe uma ampla variedade de genes que auxiliam na adaptação a diferentes ambientes e também na infecção do hospedeiro (Dasti et al., 2010; García-Sanchez et al., 2018).

A colonização bem-sucedida do íleo e do cólon é um pré-requisito indispensável para a patogênese de *Campylobacter*, pois é nesta fase que os

mecanismos de virulência são ativados (Young et al., 2007). Esse processo é orquestrado por uma complexa rede de regulação gênica, que permite a bactéria adaptar-se ao ambiente intestinal e expressar os fatores necessários para a adesão, invasão e persistência (Dugar et al., 2016; Van Der Stel et al., 2017).

Durante a infecção, *Campylobacter* utiliza dois principais mecanismos. O primeiro envolve a adesão ao intestino, seguida pela produção de toxinas que prejudicam a capacidade de absorção, levando a episódios de diarreia. O segundo mecanismo consiste na invasão, proliferação e colonização da mucosa intestinal, o que provoca respostas inflamatórias e, eventualmente, a presença de diarreia com sangue (Dasti et al., 2010).

O mecanismo de invasão de *Campylobacter jejuni* nas células epiteliais intestinais é um processo multifatorial e um passo determinante na sua patogênese. O modelo clássico descreve um papel central para o flagelo, que funciona como um sistema de secreção do tipo III para injetar proteínas efetoras na célula hospedeira, como as proteínas CIA, manipulando o citoesqueleto de actina para forçar a internalização bacteriana (Ó Cróinín e Backert, 2012). Pesquisas mais recentes expandiram essa visão, revelando um arsenal de virulência mais complexo. Foi demonstrado que *C. jejuni* também utiliza Vesículas de Membrana Externa (OMVs) para entregar fatores de virulência à distância (Elmi et al., 2016) e que, dependendo da cepa, pode empregar um Sistema de Secreção do Tipo VI (T6SS) para modular a interação com o hospedeiro e competir com outras bactérias (Corcionivoschi et al., 2015). Além disso, novas proteínas efetoras com funções citotóxicas e pró-inflamatórias, como a TlyA, foram identificadas, mostrando que a bactéria utiliza múltiplas estratégias coordenadas para invadir tecidos e causar a doença (Samavedam et al., 2021).

Os flagelos desempenham um papel fundamental no processo de motilidade, mas também estão relacionados a outras funções como adesão e invasão, quimiotaxia, auto-aglutinação e colonização (Burnham e Hendrixson, 2018; Subramanian e Kearns, 2019), auxiliando na aderência e penetração nas células epiteliais da mucosa intestinal (Young et al., 2007). Konkel et al. (2004) demonstraram que *Campylobacter* utiliza o aparato flagelar para a secreção de diversas proteínas envolvidas na sua patogênese.

A motilidade quimiotática é estimulada pela quimiotaxia, permitindo que as células bacterianas penetrem na camada mucosa do trato gastrointestinal para os posteriores processos de adesão, colonização e invasão (Hendrixson e Dirita, 2004; Chang e Miller, 2006). É essencial para a sobrevivência do microrganismo no intestino e é um fator primordial para desencadear a doença em humanos (Dasti et al., 2010). *Campylobacter* move-se em direção a ambientes favoráveis que contêm maiores concentrações de nutrientes ou menores concentrações de substâncias químicas tóxicas (quimiotaxia negativa) (Wadhams e Earmitage, 2004).

As toxinas também estão associadas ao processo de campilobacteriose, sendo a CDT (toxina citoletal distensiva) a mais bem caracterizada (Asakura et al., 2008). Há três genes responsáveis pela codificação dessa toxina, *cdt*A, *cdt*B e *cdt*C (Asakura et al, 2007). As cepas produtoras de CDT apresentam alto poder de aderência, maior capacidade invasiva e citotoxicidade, sendo capazes de provocar casos mais severos da enfermidade (Jain et al., 2008).

Os LOS (lipooligossacarídeosrideos) estão presentes em diversas espécies bacterianas (Wen e Zhang, 2015), sendo responsáveis por diversas funções relacionadas à virulência, como proteção à dessecação, adesão, colonização e resistência ao sistema imunológico do hospedeiro (Van Alphen et al., 2014; Wen e Zhang, 2015).

Nas infecções sistêmicas, a presença de LOS (lipooligossacarídeos) desempenha um papel fundamental (Sahin et al., 2017), como também na modulação da resposta imune (Maue et al., 2012; Rose et al., 2012).

Além disso, o LOS pode mimetizar componentes do hospedeiro humano, o que ajuda a evitar a detecção pelo sistema imunológico, facilitando a colonização e a persistência da bactéria (Gorka et al., 2010). O mimetismo entre a estrutura do LOS de algumas cepas de *C. jejuni* e os gangliosídeos neuronais pode causar uma resposta de anticorpos reativa cruzada, levando à síndrome de Guillain-Barré, uma doença autoimune (Guerry e Szymanski, 2008; Islam et al., 2012; Walencka et al., 2018).

A visão atual, contudo, é que o potencial neurogênico de uma cepa é multifatorial (Godschalk et al., 2006). Além do tipo de LOS, outros fatores como a severidade da infecção inicial e a presença de um conjunto específico de genes de

virulência contribuem para o risco de desenvolvimento da SGB (Koga; Gilbert; Yuki, 2012; Cha et al., 2020). Nesse contexto, a utilização de marcadores moleculares, como a tipagem por MLST, tornou-se fundamental para identificar e rastrear linhagens bacterianas de alto risco, permitindo associar perfis genéticos específicos à SGB, mesmo quando a infecção inicial se manifesta como uma gastroenterite não complicada (Taboada et al., 2007).

A expressão coordenada dos fatores de virulência em *Campylobacter jejuni* é controlada por complexos sistemas regulatórios, dentre os quais se destaca o *quorum sensing* (QS). Este mecanismo de comunicação intercelular permite que as bactérias avaliem a densidade populacional e sincronizem comportamentos de grupo. O processo é mediado pela secreção e detecção de pequenas moléculas sinalizadoras, conhecidas como autoindutores (AIs) (Ghaffar et al., 2021). Em *C. jejuni*, o QS é fundamental para regular processos virulentos essenciais, como a formação de biofilme, a motilidade e a colonização intestinal, otimizando a capacidade da bactéria de estabelecer a infecção e persistir no hospedeiro e no ambiente (Wang et al., 2020).

Além da formação de biofilmes, *Campylobacter jejuni* emprega outra estratégia de sobrevivência notável para persistir sob condições ambientais adversas: a entrada no estado Viável mas Não Cultivável (VNC). Confrontada com estresses como temperaturas não ideais, privação de nutrientes ou exposição ao oxigênio, a bactéria cessa sua replicação e entra em um estado de dormência com atividade metabólica reduzida, tornando-se não detectável por métodos de cultura tradicionais (Pacholewicz et al., 2019). Morfologicamente, essa transição está frequentemente associada à mudança da forma espiral para a forma cocoide (Rodrigues et al., 2016). A grande relevância para a saúde pública reside no fato de que as células no estado VNC, embora não cultiváveis, mantêm seu potencial de virulência. Sob condições favoráveis, como o retorno ao trato gastrointestinal de um hospedeiro, essas células podem ser reativadas restaurando sua capacidade de cultivo e, crucialmente, sua infectividade, representando um risco oculto na segurança de alimentos (Oh et al., 2018).

2.2 *Salmonella* enterica

Salmonelose é uma doença causada por bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella*, que se caracterizam como bacilos Gram-negativos, não esporulados e anaeróbios facultativos. A maioria das estirpes é móvel, apresentando flagelos peritríquios, embora existam exceções imóveis, como *S.* Gallinarum e *S.* Pullorum. O gênero está inserido na família Enterobacteriaceae e compreende espécies patogênicas para humanos e animais (Brenner et al, 2000).

A taxonomia do gênero *Salmonella* é complexa, possui duas espécies: *Salmonella enterica*, com 2.610 sorovares, e *Salmonella bongori*, com 23 sorovares. A *espécie enterica* se divide em seis subespécies, sendo elas: *enterica, salamar, arizonae, diarizonae, hutnae* e *indica* (Rincón et al., 2011; Tindall et al., 2015; Tondo e Bartz, 2019). Atualmente, mais de 2.600 sorotipos foram identificados e catalogados por este esquema. A vasta maioria dos sorotipos patogênicos para humanos e animais pertence à subespécie *S*. enterica subsp. enterica (I), que sozinha abrange cerca de 1.586 sorovares (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014). No entanto, menos de 100 sorotipos são os responsáveis pela maioria das infecções humanas (Forsythe, 2013). Entre os mais prevalentes globalmente, destacam-se os sorotipos *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, que são frequentemente associados a surtos de gastroenterite não tifoide (CDC, 2018; WHO, 2018).

A relevância dos sorotipos de *Salmonella* em infecções humanas apresenta variações geográficas e temporais. Nos Estados Unidos da América, os dados mais recentes do “Centers for Diseases Control and Prevention” (CDC)indicam que os cinco sorotipos mais frequentes em infecções humanas são, em ordem decrescente: *S.* Enteritidis, *S.* Newport, *S.* Typhimurium, *S.* Javiana e *S.* Infantis. O sorovar *S.* Infantis, em particular, tem demonstrado um aumento de incidência e preocupação devido à sua associação com resistência antimicrobiana (CDC, 2025). Na União Européia, o relatório One Health mais recente, publicado pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) e pelo Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças (ECDC), confirma a salmonelose como a segunda zoonose mais notificada. Os sorotipos mais frequentemente reportados em casos humanos permanecem sendo *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium e *S.* Typhimurium monofásico (1,4,[5],12:i:-), seguidos por *S.* Infantis e *S.* Derby (EFSA, 2025).

As bactérias do gênero *Salmonella* são resistentes no meio ambiente, podendo multiplicar-se em temperaturas entre 5ºC e 46ºC, sendo 37ºC seu ideal de temperatura. São resistentes ao resfriamento de geladeira e podem resistir ao congelamento, mas são destruídas quando submetidas a temperaturas acima de 70ºC e nos processos de cozimento completo e de pasteurização. O pH ótimo para varia entre 6,6 a 8,2, sendo geralmente letais valores abaixo de 3,8 e acima de 9,5 (Ryan et al., 2017). Quanto à atividade de água, o gênero é favorecido quando a mesma atinge valores entre 0,94 e 0,99, podendo ocorrer variações entre sorotipos. Entretanto, são mais resistentes ao calor quando em alimentos com atividade de água baixa, particularmente os que têm alto teor de gordura (Forsythe, 2002).

O gênero *Salmonella* é reconhecido por sua distribuição ubíqua no ambiente, o que inclui solo, água e superfícies (Billah et al., 2024). Contudo, o principal reservatório do patógeno é o trato gastrointestinal de uma ampla variedade de hospedeiros, abrangendo animais domésticos, como aves, suínos e bovinos, animais silvestres e, secundariamente, o ser humano (Ferrari et al., 2019). É uma bactéria transmitida principalmente por consumo de produtos de origem avícola contaminados (Rincón et al., 2011). Dentre todos os tipos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) já registrados no mundo, *Salmonella* spp. está entre os mais frequentemente associados a ocorrências de doenças diarreicas (WHO, 2018).

De acordo com o CDC dos Estados Unidos da América, o gênero *Salmonella* foi responsável, no período 2004 a 2022, por 3.502 surtos em humanos, afetando 83.706 pessoas. Do total, 12.812 foram hospitalizadas e 126 morreram, sendo os alimentos de origem animal a principal via de transmissão (CDC, 2024-a; CDC, 2024-b). No Brasil há carência de dados oficiais a respeita da frequência de sorotipos de *Salmonella* spp. em surtos de DTHA. (Oliveira e Ferreira, 2021).

2.2.1 *Salmonella* spp. em aves

Salmonelose é uma das principais infecções bacterianas que afetam as aves comerciais, causando prejuízos à produção avícola, bem como um problema de saúde pública (AndreattI Filho e Okamoto, 2013; Nabil et al., 2018; Zanetti et al., 2019).

A presença de salmonela em aves pode causar três enfermidades, a pulorose causada por *Salmonella* Pullorum, o tifo aviário causado pela *Salmonella* Gallinarum

que são específicos de aves e que não afetam a saúde humana. A outra enfermidade é o paratifo aviário que tem como agente causador as salmonelas paratíficas, destacando *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, neste caso ao ser consumido, o alimento de origem avícola contaminado por essas salmonelas pode provocar infecção nos consumidores (BRASIL, 2018, Rincón et al., 2011).

Aves podem ser contaminadas em diferentes etapas da cadeia de produção, incluindo granjas de reprodução, corte, durante o transporte, nas etapas de abate e no varejo (Ramirez Hernandez et al., 2021).

A transmissão horizontal é a principal via de disseminação de *Salmonella* spp. em frangos de corte, uma vez que aves infectadas excretam o patógeno nas fezes, favorecendo a infecção de outras aves do lote (Berhanu e Fulasa, 2020; SAIF, 2009; Tariq et al., 2022). Além disso, a transmissão pode ocorrer por contato com os excretas de outras espécies de animais portadores, como roedores e gatos, além dos insetos. Aliado a isso, a infecção pode acontecer após a ingestão de água ou ração e, ainda, pela cama do aviário, água, aerossóis e equipamentos previamente contaminados (O'Bryan et al., 2022).

Para a prevenção e controle das salmoneloses na avicultura é necessária a implementação de boas medidas de biosseguridade em todas as etapas da cadeia de produção (Fraser et al., 2010; Back, 2019).

Os mercados internacional e nacional apresentam tolerância zero para a presença de *Salmonella* spp. em carcaças e vísceras comestíveis, ou seja, atender essa exigência é primordial (Oliveira et al., 2012). Consequentemente, O MAPA vem, há vários anos, implementando legislações que contemplam regras para monitoramento e fiscalização em toda a cadeia de produção de frangos de corte e perus, visando a redução de contaminação por *Salmonella* enterica na carne de aves (BRASIL, 2021).

Em decorrência das perdas econômicas causadas por *Salmonella* enterica à avicultura e por afetar a exportação de produtos avícolas brasileiros, o controle desse patógeno é um dos componentes do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura e Pecuária. A exemplo, a Instrução Normativa nº 78 de 2003 determina que toda granja de reprodutoras de aves deve ser monitoradas, por meio de testes sorológicos, bacteriológicos e/ou moleculares para *Salmonella*

Pullorum, *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (BRASIL, 2003).

A Instrução Normativa SDA (Secretaria da Defesa Agropecuária) nº 20, de 21 de outubro de 2016, por outro lado, estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com o objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor, sendo que todos os lotes de frangos e perus de corte devem ser submetidos a colheitas de amostras para detecção de *Salmonella* spp. antes do seu envio para o abate (BRASIL, 2016).

A Instrução Normativa SDA nº 20/2016 estabelece as diretrizes para o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. em estabelecimentos avícolas, desde a granja até o abatedouro, visando reduzir a prevalência deste patógeno e contribuir para a saúde pública. (BRASIL, 2016). Além do controle oficial, a IN-20/2016 também instituiu a obrigatoriedade das empresas integradoras incluírem um programa de autocontrole e monitoramento da *Salmonella* spp. nos seus programas de Controle de Qualidade (CQ), com colheita de carcaças em maior número e em intervalo de tempo menor, além do controle e monitoramento da *Salmonella* spp., desde a obtenção da matéria prima até o produto final da produção de carne de frango e perus (BRASIL, 2016).

O abatedouro constitui-se em uma fonte potencial de contaminação por *Salmonella enterica* na carne de aves (Zeng et al., 2021), sendo possível a propagação tanto entre aves de um mesmo lote quanto entre lotes distintos (Oliveira et al., 2012), mesmo em instalações automatizadas (Rasschaert et al., 2008). A disseminação ocorre por meio de mecanismos de contaminação cruzada durante o processo de abate em pontos considerados críticos, envolvendo contato com água contaminada nas etapas de escaldagem e resfriamento, além da disseminação durante a depenagem, bem como na evisceração (Hamidi et al., 2014; Boubendir et al., 2020; Hachiya et al., 2020).

Há abatedouros que têm processos higiênico-sanitários ineficientes, o que favorece a contaminação microbiológica ao longo do processamento das carcaças (Silva, 2019) e a persistência de *Salmonella enterica* nestes locais (Zeng et al., 2021)

por meio de biofilmes (Marin e Lainez, 2009). É possível que a bactéria permaneça viável por até 15 meses no ambiente do abatedouro (Barron e Forsythe, 2007), bactérias em biofilmes são até 1.000 vezes mais tolerantes a desinfetantes e remoção mecânica (Dieltjens et al., 2020).

Para controlar a entrada de *Salmonella enterica* na planta de abate é necessário aprimorar as medidas de biosseguridade das granjas de matrizes e de frangos de corte, a fim de reduzir a pressão de infecção (Marin et al., 2022). Saber o status do lote também é fundamental para prevenir a contaminação das carcaças (Zeng et al., 2021).

2.2.2 Importância em saúde pública

Salmonella está entre os quatro principais patógenos associados a episódios de DTHA (WHO, 2018; BRASIL, 2019a; EFSA, 2021; O'Bryan et al., 2022), representando importante causa de morbidade e mortalidade, tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, sendo um risco à saúde pública (Oliveira et al., 2012; Silva, 2017; WHO, 2018).

Salmonelose é a segunda principal causa de infecções gastrointestinais em humanos causada por alimentos na União Européia (EFSA, 2021), caracterizada por diarreia, dor abdominal, febre, dor de cabeça, náusea e/ou vômito, que geralmente se resolve em 2 a 7 dias. No entanto, em certos casos, especialmente em crianças e idosos, a doença pode progredir para uma condição grave e com risco de morte em decorrência de bacteremia sistêmica (OMS, 2018).

Tradicionalmente, salmoneloses de origem alimentar têm sido associadas ao consumo de carne de aves e ovos contaminados (FSIS, 2015; WHO, 2015; Jarvis et al., 2016; Rouger et al., 2017; EFSA, 2018), podendo estar relacionadas a falta de cozimento adequado ou contaminação cruzada. (WHO, 2018). Portanto, a presença de *Salmonella* spp. não é desejável, uma vez que pode provocar graves prejuízos à saúde pública e a economia (Nazir et al, 2012; Bersot et al., 2019).

S. Enteritidis, *S.* Typhimurium e *S*. Typhimurium variante monofásica S. (I.4,[5],12:i:-) (mST) estão classificados como os sorotipos mais identificados em infecções humanas (CDC, 2021; Fernandes et al., 2022; Galán-Relaño et al., 2023).

Os esforços para reduzir a transmissão de *Salmonella enterica* por meio de alimentos contaminados e de outras vias devem ser implementados como uma abordagem de Saúde Única (Galán-Relaño et al., 2023).

2.2.3 Informações a respeito de *Salmonella enterica* no Brasil

No Brasil, este microrganismo também tem sido apontado como um dos principais agentes etiológicos identificados nas investigações de DTHA, desde 2000 (BRASIL, 2019). Entre os anos de 2000 e 2023, foram notificados 16.839 surtos de DTHA que resultaram em um total de 304.147 casos e 262 óbitos. *Salmonella enterica* foi responsável por aproximadamente 7,4% desses episódios, afetando 26.522 pessoas e causando 30 óbitos (MS, 2024). No entanto, esse valor pode não refletir com precisão a quantidade real de surtos causados por essa bactéria (Fernandes et al., 2022; Guedes, 2024).

A grande maioria dos casos de salmoneloses no Brasil não são notificados, impedindo que o real cenário epidemiológico seja evidenciado (Ebling e Rossmann, 2016). A subnotificação contribui para a desinformação da população acerca dos riscos e das consequências das doenças transmitidas por alimentos e água, resultando na redução da procura por serviços de saúde e comprometendo o diagnóstico e o tratamento adequados. Ademais, esse fenômeno reforça a subestimação no registro de dados epidemiológicos (Oliveira e Ferreira, 2021).

Evidências desse desafio são observadas em um estudo realizado entre 2004 e 2020. No período foram identificados 104 sorotipos distintos de *Salmonella enterica* em 3.512 isolados de casos humanos (Fernandes et al., 2022), destacando a complexidade da vigilância e a necessidade de notificação.

2.2.4 Resistência aos antimicrobianos em *Salmonella* spp.

A resistência aos antimicrobianos (RAM) é definida pela capacidade do microrganismo multiplicar-se ou manter-se na presença de determinado antimicrobiano (Alekshun e Levy, 2007). A resistência em bactérias é um dos mais relevantes problemas de saúde pública em todo o mundo, uma grave ameaça à saúde humana (CDC, 2022; Hou et al., 2023).

Kim et al. (2004) relataram que os padrões de resistência aos antimicrobianos estão em constante mudança e o surgimento de *Salmonella enterica* multirresistente ameaça a saúde pública (Moraes et al., 2014; Rayamajhi et al., 2018), gerando preocupação mundial, pois as opções de tratamento das infecções podem ficam limitadas (Tacconelli et al., 2018).

Cepas de *Salmonella enterica* resistentes a uma grande variedade de antimicrobianos têm se tornado um problema na indústria avícola (Leal et al., 2018). O uso excessivo ou inadequado de diferentes tipos de antimicrobianos na alimentação animal é apontado como uma das principais causas desse problema. Tais microrganismos e seus genes de resistência podem ser transmitidos aos humanos através por meio de alimentos de origem animal (Barilli et al., 2018; Nguyen et al., 2021).

A RAM em bactérias como a *Salmonella enterica* pode ser intrínseca ou adquirida (Chaudhari et al., 2023). A resistência intrínseca pode ser oriunda de características estruturais ou funcionais da própria bactéria, que resultam em uma ação ineficiente do antimicrobiano. Já a resistência adquirida ocorre pela obtenção de material genético exógeno contendo genes de resistência (Blair et al., 2015).

A principal forma de aquisição desses genes é a Transferência Horizontal de Genes (HGT), que ocorre por meio de transformação, conjugação e transdução (Ndagi et al., 2020). Nesse processo, elementos genéticos móveis como plasmídeos, integrons e transposons atuam como veículos, transportando e disseminando os genes de resistência entre as bactérias (Blair et al., 2015).

O surgimento e a disseminação de isolados de *Salmonella enterica* resistentes a múltiplos antimicrobianos representa preocupação para a saúde pública, uma vez que esses fármacos são essenciais para o tratamento eficaz de infecções invasivas e complicadas (Parry & Threlfall, 2008; Antunes et al., 2016).

A propagação de estirpes resistentes não apenas compromete a eficácia dos tratamentos em medicina humana, aumentando as taxas de morbimortalidade (GBD 2021 ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS, 2024), como também impõe barreiras ao comércio internacional de produtos avícolas, como carne de frango e ovos (Shah et al., 2017). Nesse contexto**,** a implementação de medidas rigorosas de biosseguridade em toda a cadeia produtiva de alimentos é crucial para mitigar a

disseminação de *Salmonella* e garantir a segurança dos produtos comercializados em escala global (Antunes et al., 2016; Soares et al., 2023).

Diante desse cenário, torna-se imperativa a adoção de políticas governamentais que promovam o uso racional de antimicrobianos, alinhadas às diretrizes estabelecidas por organizações internacionais de saúde (WHO, 2015).

2.2.5 Fatores de Virulência

As bactérias patogênicas se diferenciam de outras não patogênicas devido à presença e expressão de genes que codificam os fatores de virulência, que possibilitam ao patógeno causar doença no hospedeiro. Estes fatores são reconhecidos por propiciar ao microrganismo a invasão e colonização das células do hospedeiro, determinando uma série de eventos que desencadeiam a doença (Vieira, 2009; Campos, 2015).

Salmonella enterica possui um mecanismo de patogenicidade determinado por um complexo sistema de fatores de virulência que inclui estruturas de adesão como fímbrias e flagelos, proteínas efetoras do sistema de secreção, capacidade de invasão, resistência à ação do sistema complemento, produção de potentes endotoxinas (Vieira, 2009; Gagnon et al., 2013). Este patógeno exibe notável plasticidade adaptativa, modulando sua expressão fenotípica e genotípica em resposta a variações ambientais, o que favorece sua sobrevivência e proliferação em distintos nichos ecológicos (Larock et al., 2015; Trabulsi e Alterthum, 2015; Chakroun et al., 2018).

Apesar de todos os sorotipos de *Salmonella enterica* serem considerados como potencialmente patogênicos, existem algumas diferenças na sua virulência (Karasova et al., 2009). Isso porque a bactéria pode perder e adquirir novos fatores de virulência ao longo do tempo, a fim de adaptar-se a novos hospedeiros ou ao ambiente (Berchieri Júnior & Freitas Neto, 2009; Suez et al., 2013).

Os genes de virulência de *Salmonella enterica* podem ser cromossômicos ou plasmideais. A maioria destes genes está localizada em grandes regiões do cromossomo, denominadas ilhas de patogenicidade de *Salmonella* (IPS). Existem inúmeras ilhas de patogenicidade, mas as mais conhecidas e estudadas são as

primeiras cinco IPS (IPS-1, IPS-2, IPS-3, IPS-4 e IPS-5), (Ferreira e Campos, 2008) e ainda um plasmídeo associado à virulência do *operon* pSTV (Fardsanei et al., 2017).

O processo de invasão das células epiteliais intestinais por *Salmonella* é uma etapa crítica de sua patogênese, mediada primariamente pelo Sistema de Secreção do Tipo 3 (T3SS-1), codificado na Ilha de Patogenicidade de *Salmonella* 1 (SPI-1). Este aparato molecular injeta um conjunto de proteínas efetoras diretamente no citoplasma da célula hospedeira, subvertendo suas funções para forçar a internalização da bactéria (Zhang et al., 2018; Lawrence et al., 2021).

De acordo com o sorotipo envolvido, a quantidade do inóculo, fatores de virulência expressos pelo agente e do estado imunológico do hospedeiro, *Salmonella enterica* pode ocasionar desde uma infecção gastrintestinal branda até uma infecção sistêmica. No entanto, para ser capaz de desencadear a doença, a bactéria necessita encontrar um ambiente com sinais físico-químicos específicos, como baixa tensão de oxigênio e osmolaridade característica do intestino, para que possa se estabelecer, replicar e expressar seus fatores de virulência (Ochoa e Rodríguez, 2005), permitindo que a bactéria se estabeleça e replique (Finlay e Falkow, 1997).

De acordo com o sorotipo envolvido, a quantidade do inóculo, os fatores de virulência expressos pelo agente e o estado imunológico do hospedeiro, *Salmonella enterica* pode ocasionar desde uma infecção gastrintestinal branda até uma infecção sistêmica grave. O processo infeccioso está intimamente ligado à sua capacidade de sentir e responder a sinais físico-químicos específicos do ambiente intestinal, como baixa tensão de oxigênio e osmolaridade (Wang et al, 2020). Esses sinais desencadeiam uma complexa regulação que leva à expressão coordenada de fatores de virulência cruciais, codificados, por exemplo, nas Ilhas de Patogenicidade de *Salmonella* (SPIs) 1 e 2 e em plasmídeos de virulência (Dos Santos et al., 2019). Estes sistemas permitem que a bactéria se estabeleça, replique e, em sorotipos invasivos, ultrapasse a barreira intestinal para causar doença sistêmica (Dos Santos et al., 2019; Wang et al, 2020)

2.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli, causadora da patologia colibacilose, foi descrita e denominada *Bacterium coli commune* no final do século XIX, por Theodor Von Escherich. Devido ao fato de ser encontrada no cólon e extremamente comum nos humanos e animais, em 1958 passou a ser chamada de *Escherichia coli* (*E. coli*) em homenagem ao seu descobridor e local do intestino em que se encontra (Ferreira e Knöbl, 2009).

Essa bactéria pertence à família Enterobacteriacea, sendo extremamente heterogênea e complexa (Trabulsi e Alterthum, 2005), Gram-negativas, não esporuladas em forma de bastonetes (bacilos) com aproximadamente 0,5 µm de diâmetro e de 1 a 3 µm de comprimento, podendo possuir flagelos peritríqueos, são anaeróbias facultativas. Sua multiplicação ocorre entre 18 a 44°C, sendo 37°C o ideal (Ferreira e Knöbl, 2009; Gyles e Fairbrother, 2010).

São inativadas em temperaturas que variam de 60°C durante 30 minutos a 70°C por 2 minutos; sobrevive ao congelamento e persiste por longos períodos em baixas temperaturas. Tem a capacidade de adquirir resistência a uma vasta gama de desinfetantes, como clorexidina, formaldeído, peróxido de hidrogênio e compostos de amônia quaternária (Hirsh e Zee, 2003).

Esse microrganismo pertence a microbiota intestinal de humanos, animais de sangue quente, incluindo frangos, sendo o mais importante indicador de contaminação fecal, embora possa ser introduzido nos alimentos a partir de fontes não fecais (JAY, 2005). Atua como patógeno entérico ou extra-intestinal (Ron, 2006), podendo causar infecções associadas ao consumo de alimentos ou água contaminados com fezes (Bajpai *et al*, 2019).

Kaper (2005) descreveu que os principais grupos de *E. coli* patogênicas associadas aos alimentos são: *E. coli* enteropatogénicas (EPEC), *E.* coli enterotoxigénicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC), onde se inclui *E. coli* O157:H7, *E. coli* enteroagregativa (EaggEC), *E. coli* que adere difusamente (DAEC), *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* de meningite neonatal (NMEC), *E. coli* patogênica para frangos (APEC), sendo tal classificação baseada nos fatores de virulência, nos mecanismos de patogenicidade e na sorologia.

Os determinantes antigênicos estão localizados principalmente na parede celular, sendo classificados como antígenos somáticos (O), flagelares (H) e

capsulares (K) (Gyles e Fairbrother, 2010), sendo importantes na patogênese (Bertão e Saridakis; 2007).

Os antígenos somáticos (O) são lipopolissacarídeos, localizando-se na superfície da parede celular. Sua especificidade é determinada pelas cadeias de carboidratos. Antígenos flagelares (H) são de natureza proteica e os capsulares (K) e as fímbrias, são compostos por polissacarídeos (Quinn et al., 2005; Lara, 2017).

2.3.1 *Escherichia coli* em aves

Entre os patógenos bacterianos de relevância na avicultura, *Escherichia coli* destaca-se como um dos principais responsáveis por significativas perdas econômicas no setor (Casagrande et al., 2017). Esses prejuízos decorrem tanto de condenação parcial ou total de carcaças nos abatedouros quanto dos custos associados ao tratamento de animais doentes e à mortalidade nos planteis (De Oliveira Almeida et al., 2018). A intensificação dos sistemas de produção avícola, por sua vez, cria condições ideais para a disseminação desse patógeno, elevando não apenas o risco de infecções graves nos animais, mas também o potencial de transmissão zoonótica (Silva et al., 2012).

Existem diferentes cepas de *E. coli* que são divididas de acordo com as diferentes síndromes e sinais clínicos causados, incluindo *E. coli* patogênica para aves (APEC). A colibacilose em aves provoca principalmente lesões extraintestinais (Silva, 2015), manifestando-se com quadros de peritonite, pneumonia, pleuropneumonia, aerossaculite, pericardite, coliganuloma, doença respiratória crônica complicada (DRCC), onfalite, salpingite, síndrome da cabeça inchada (SCI), osteomielite e ooforite (Salehi et al., 2008; Shahbazi e Feizi, 2015). Essas infecções causam diminuição no crescimento das aves, aumentando a mortalidade e a morbidade e, portanto, elevando as perdas econômicas (Zhong et al., 2014; Kunert Filho et al., 2015; Huja et al., 2015; DE Souza et al., 2016).

As APECs são classificadas em quatro grupos (A, B1, B2 e D) de acordo com o potencial patogênico e relação genética (Gordon et al., 2008). A maior parte das *E. coli* comensais estão nos grupos A e B1. Já as amostras patogênicas pertencem ao grupo B2 e com menor frequência ao grupo D (DA Silveira Rocha et al., 2017).

Vários sorogrupos de *E. coli* estão relacionados à colibacilose aviária particularmente O1, O2, O6, O8, O35, O78, O109 e O115, sendo que o O1, O2, O35 e O78 são os mais frequentemente isolados em aves de produção com colibacilose em todo o mundo (Dziva e Stevens, 2008; Iancu et al., 2014). No Brasil, os sorogrupos de APEC mais frequentemente isolados são: O2, O21, O36, O50, O78, O88, O119 e O152 (Menão et al., 2002; Ferreira e Knöbl, 2009).

APEC acomete aves de todas as idades, sendo que a susceptibilidade e a gravidade da doença são mais intensas nas mais jovens. A bactéria pode afetar praticamente todos os órgãos das aves, causando infecções intestinais e extraintestinais (Dziva e Stevens, 2008). A mortalidade acumulada em um surto de colibacilose costuma atingir níveis entre 5 e 10%, porém o grau de morbidade pode chegar a 50% (Vandekerchove et al., 2004; Ask, 2006).

Segundo Guastalli & Soares (2011) a contaminação fecal do ovo fértil é a principal via de transmissão para os pintinhos, em decorrência da penetração da bactéria dos poros da casca para o seu interior (Dziva e Stevens, 2008), existindo também a possibilidade de transmissão transovariana de reprodutoras infectadas para a progênie.

Embora a avicultura de corte tenha alcançado notáveis avanços tecnológicos, a contaminação microbiológica da carne avícola permanece como um desafio, acarretando perdas econômicas expressivas e ainda riscos à saúde pública (Kuchenny et al., 2009; Pianho et al., 2015; Flores e Melo, 2015). Dentre os patógenos de maior relevância, *Escherichia coli* destaca-se como principal agente de condenações frigoríficas devido às lesões desencadeadas em órgãos (Dziva e Stevens, 2008), além de representar riscos aos consumidores (Silva et al., 2012). Portanto, essa bactéria compromete tanto a produtividade como a segurança alimentar (Kuchenny et al., 2009; Flores e Melo, 2015).

2.3.2 Importância em saúde pública

Há estudos que comprovam a participação da *E. coli* em doenças ligadas a humanos, tais como infecções hospitalares, doenças urinárias, septicemia, além de meningite em recém-nascidos. Vale ressaltar que muitos dos isolados envolvidos nos exemplos acima apresentam resistência aos antimicrobianos, o que dificulta o

tratamento de tais infecções, inferindo-se que frangos são reservatórios de *E. coli* resistentes a bases medicamentosas usadas no tratamento destas doenças (Johnson et al., 2012).

Escherichia coli destaca-se entre os principais patógenos de origem alimentar devido ao seu potencial de causar doenças graves e até fatais em humanos, podendo estar associada ao consumo de carne de frango contaminada (Markland et al., 2015). Entre suas manifestações mais severas, inclui-se a síndrome hemolítico-urêmica (SHU), condição que pode evoluir para insuficiência renal (Degala et al., 2018). Além disso, produtos avícolas representam fontes relevantes de *E. coli* cuja elevada virulência e capacidade zoonótica são corroboradas pela identificação de genes homólogos entre isolados humanos e avícolas, reforçando o papel epidemiológico da carne de frango como veículo de transmissão e os impactos na saúde pública (Mitchell et al., 2015).

O potencial zoonótico de *Escherichia coli* não deve ser negligenciado uma vez que diversas cepas atuam como importantes reservatórios de genes de resistência, tanto em animais quanto no meio ambiente (Korb, 2014). Essa característica não apenas favorece a disseminação da resistência antimicrobiana (Tavares e Ribeiro, 2007; Stromberg et al., 2017), mas também compromete a eficácia terapêutica, elevando os índices de morbidade e mortalidade humana (Korb, 2014).

A utilização de antimicrobianos na avicultura moderna representa um desafio crítico para a abordagem de Saúde Única, sendo um dos principais motores para a seleção e proliferação de bactérias resistentes em escala global **(**Koga et al., 2015; Aslam et al., 2021; Murray et al., 2022). Práticas como a administração profilática indiscriminada e o uso de doses subterapêuticas para promover o crescimento animal, embora em declínio regulatório, deixaram um legado de resistência amplificada no ambiente de produção (Wang et al., 2020). Essa pressão seletiva não apenas compromete a eficácia terapêutica na medicina veterinária, mas também facilita a transferência de genes de resistência para patógenos humanos, diminuindo as opções de tratamento para infecções em pessoas e configurando uma ameaça direta à saúde pública (WHO, 2021).

O uso frequente de antimicrobianos na produção avícola representa uma preocupação significativa no contexto de Saúde Única, uma vez que contribui para a

seleção de microrganismos resistentes (Koga et al., 2015). Essa resistência é amplificada por práticas inadequadas, como a utilização de antibióticos como melhoradores de desempenho, a administração indiscriminada para profilaxia e a aplicação de dosagens subterapêuticas, fatores determinantes na emergência de resistência tanto na medicina veterinária quanto humana (Andreatti Filho, 2006; Gonçalves et al., 2012).

2.3.3 Informações a respeito de *E. coli* no Brasil

As DTHAs são um importante problema de saúde pública por causarem morbidade e mortalidade, sendo que a sua incidência tem aumentado significativamente em todo o mundo e gerado preocupações globais (Finger et al., 2019; Lentz et al., 2018). No Brasil, nas últimas décadas os principais microrganismos envolvidos em surtos de DTA foram *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (BRASIL, 2018).

O patótipo EPEC possui maior prevalência nas diarreias em crianças em países subdesenvolvidos, variando de 5% a 10% (Torres, 2017). A principal medida de prevenção a ser adotada com relação à doença diarreica causada por *E. coli* diz respeito à higiene dos alimentos e da água a ser ingerida (BRASIL, 2019).

2.3.4 Resistência aos antimicrobianos em *E. coli*

E. coli tem capacidade de adquirir, manter e transmitir genes de resistência aos antimicrobianos (Zhao et al. 2012; Huja et al., 2015). É possível observar que esse patógeno prontamente pode adquirir resistência aos mais comuns antimicrobianos utilizados tanto na saúde humana quanto em medicina veterinária (Hussain et al., 2017).

O uso de antimicrobianos na avicultura industrial como estratégia para prevenção e tratamento de infecções por *E. coli* tem impulsionado a produtividade do setor, mas também contribuiu para a seleção de bactérias multirresistentes (Johnson et al., 2012; Mellata et al., 2013). Essa dinâmica gera preocupação tanto para a indústria quanto para os consumidores, uma vez que a carne de frango pode se tornar veículo de doenças transmitidas por alimentos e um relevante disseminador de resistência antimicrobiana (Azevedo et al., 2015).

Esse cenário é preocupante, pois pode comprometer a eficácia de medicamentos essenciais à saúde humana e animal (Hussain et al., 2017*),* uma vez *que* resistência antimicrobiana é considerada, pela Organização Mundial da Saúde, como uma das mais relevantes ameaças à saúde pública global (WHO, 2020).

Nas últimas décadas, um número crescente de genes de resistência tem sido identificado em isolados de *E. coli*, muitos dos quais adquiridos por transferência horizontal (Poirel et al., 2018).

A resistência de *Escherichia coli* aos antibióticos beta-lactâmicos, mediada principalmente pela produção de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) (Lago et al., 2010) e carbapenemases, tornou-se uma ameaça global à saúde pública. A produção avícola é reconhecida como um reservatório e disseminador crucial desses mecanismos de resistência. Estudos genômicos recentes confirmam a transmissão direta de cepas multirresistentes de aves para humanos (Li et al., 2022). No Brasil, a situação é alarmante, com a detecção de *E. coli* produtoras de ESBL em carne de frango comercializada em diversas regiões (Mendes et al., 2023) e, mais criticamente, o surgimento de cepas resistentes a carbapenêmicos na própria produção avícola (Campos et al., 2021). Essa disseminação não se limita à cadeia alimentar, contaminando também o ambiente e ampliando o alcance do problema sob a ótica da Saúde Única (Janezic et al., 2020).

Estudos recentes evidenciaram que o uso de bacitracina (um melhorador de desempenho amplamente empregado) e enrofloxacina (um antimicrobiano frequente na avicultura) seleciona cepas resistentes de Enterobacteriaceae em frangos de corte. Particularmente, a administração de enrofloxacina demonstrou favorecer o surgimento de cepas de *E. coli* multirresistentes, ampliando as preocupações sobre o impacto do uso de antimicrobianos na produção animal (Gupta et al., 2021).

2.3.5 Fatores de Virulência

Fatores de virulência são moléculas específicas, principalmente proteínas produzidas e liberadas por bactérias, fungos, protozoários e vírus. Esses fatores são codificados por genes específicos localizados no cromossomo ou em elementos genéticos móveis (plasmídeos ou transposons) em patógenos bacterianos (Wu et al., 2008; Alegbeleye et al., 2018).

A patogenicidade de *E. coli* se manifesta por um mecanismo multifatorial e complexo que envolve vários fatores de virulência–que variam de acordo com o sorotipo (Rocha, 2008). Cada patotipo tem seu próprio mecanismo molecular característico para aderir e explorar a célula hospedeira, levando a sintomas clínicos particulares. Este fato possibilitou a classificação dos patotipos de *E. coli* em dois grandes grupos: as linhagens causadoras de infecção intestinal (patogênicas intestinais ou enteropatogênicas) e as capazes de causar infecção extraintestinal ExPEC (Croxen e Finlay, 2010). Cepas de *E. coli* patogênica aviária (APEC) e de *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC), que causam infecções em humanos, são filogeneticamente relacionadas e compartilham alguns genes de virulência (Rodriguez et al., 2005; Manges, 2016).

Estudos identificam o surgimento de linhagens híbridas, particularmente entre *E. coli* enteropatogênicas atípicas (aEPEC), que acumularam um repertório de fatores de virulência tradicionalmente associados às ExPEC. Essas linhagens possuem o potencial de causar tanto diarreia quanto infecções sistêmicas, como bacteremia, representando uma preocupação clínica significativa (Santos et al., 2024).

Genes de virulência em *E. coli* codificam mecanismos moleculares essenciais para a patogênese, incluindo adesão, invasão tecidual, captação de ferro, motilidade e síntese de toxinas (Mainil, 2013). Em linhagens patogênicas, os fatores de virulência abrangem componentes estruturais, como o lipopolissacarídeo (LPS), que atua como endotoxina, exotoxinas e colicinas, além de fatores de aderência e colonização celular (Tortora et al., 2012; Quinn et al., 2005). Esses elementos permitem que a bactéria tenha adesão e invada tecidos, evitem ataques das defesas do hospedeiro, interferindo diretamente nas funções celulares por meio de toxinas ou proteínas secretadas (Croxen e Finlay, 2010).

Nos últimos anos, avanços na caracterização molecular revelaram um crescente número de fatores de virulência associados a esses patotipos, reforçando seu impacto na saúde pública e na segurança alimentar (Pakbin et al., 2021).

2.3 *Listeria* spp.

O gênero *Listeria* é constituído por bactérias Gram-positivas, morfologicamente classificadas como cocobacilos curtos. São organismos anaeróbios facultativos, não esporulados e móveis devido à presença de flagelos peritríquios, com motilidade variável a 20–25°C. Do ponto de vista bioquímico, são catalase-positivas, oxidase-negativas e fermentam a glicose e outros açúcares, com produção de ácido lático (Vasconcelos, 2008; Souza, 2021). A temperatura ideal de crescimento de *L. monocytogenes* é de 30 a 37 °C, mas pode sobreviver entre 0 e 45°C (Meloni, 2014).

Possui 17 espécies: *Listeria denitrificans, Listeria fleischmannii, Listeria grayi, Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes, Listeria murrayi, Listeria rocourtiae, Listeria seeligeri*, *Listeria weihenstephanensis, Listeria welshimeri, Listeria Ivanovii, Listeria aquática, Listeria cornellensis, Listeria floridensis, Listeria grandensis e Listeria marthii* (Luque-Sastre et al., 2018; Leclercq et al., 2019). Dentre estas, duas são consideradas patogênicas: *L. monocytogenes* para humanos e *L. ivanovii* para outros mamíferos (Luque-Sastre et al., 2018).

O primeiro surto documentado de listeriose de origem alimentar ocorreu em 1981, no Canadá, associado ao consumo de salada de repolho contaminada durante o cultivo, presumivelmente por meio de fertilizante orgânico de origem animal. Esse evento resultou em 52 casos confirmados, dos quais 11 evoluíram para óbito (Byrne, 2014).

Listeria monocytogenes é o agente etiológico da listeriose, uma zoonose de importância mundial. Estima-se que este patógeno seja responsável por aproximadamente 23.000 casos anuais de infecções invasivas em todo o mundo (Rodríguez-Campos et al., 2019). Sua principal via de transmissão para humanos é a ingestão de alimentos contaminados, incluindo produtos cárneos, laticínios, hortaliças e, de modo significativo, alimentos prontos para consumo (Ryu et al., 2013; Todd e Notermans, 2011; Vasconcelos, 2008).

Devido à sua alta taxa de mortalidade em grupos vulneráveis, a listeriose é considerada uma das doenças de transmissão hídrica e alimentar mais graves e letais na atualidade. Embora seja uma infecção rara, a bactéria *Listeria monocytogenes* causou, na União Europeia em 2024, a maior proporção de hospitalizações e óbitos entre todas as doenças transmitidas por alimentos reportadas (EFSA/ECDC, 2024). A

tendência de aumento de casos nos últimos anos reforça o seu impacto como uma séria ameaça à saúde pública (Lecuit e Hain, 2025; Marler Clark, 2023).

Listeria monocytogenes apresenta uma distribuição ubíqua no ambiente, sendo frequentemente isolada de nichos como solo, água, vegetação em decomposição, fezes de animais e ambientes úmidos. A bactéria também pode ser encontrada, de forma assintomática, no trato intestinal de humanos e animais, tanto domésticos quanto selvagens (Liu et al., 2007; Todd e Notermans, 2011). Microrganismo psicrotrófico facultativo, capaz de se multiplicar em temperaturas de refrigeração (entre 0°C e 4°C). Essa característica, somada à sua notória resistência a desinfetantes comuns e à habilidade de aderir e formar biofilmes em superfícies diversas, confere-lhe uma elevada capacidade de persistência em ambientes de processamento de alimentos. Locais como ralos, frestas de equipamentos e pisos oferecem condições ideais para sua colonização e disseminação cruzada (Carpentier e Cerf, 2011; Meloni, 2014).

Em seres humanos imunocompetentes, a listeriose de origem alimentar manifesta-se tipicamente como uma gastroenterite febril autolimitada. No entanto, atua como um patógeno oportunista de alta gravidade em grupos de risco, incluindo idosos, neonatos, gestantes e imunossuprimidos. Nestas populações vulneráveis, a infecção pode evoluir para formas invasivas e sistêmicas, tais como septicemia, meningite, encefalite e, no caso de gestantes, aborto espontâneo ou infecção neonatal (Meloni, 2014; Silva, 2021). Embora sua incidência seja considerada baixa em comparação a outras doenças de transmissão hídrica e alimentar, a forma invasiva da listeriose destaca-se pela elevada letalidade, com taxas de mortalidade reportadas entre 20% e 30% (Li et al., 2020). As manifestações clínicas iniciais da forma não invasiva, ou gastroenterítica, incluem febre, cólicas abdominais, náuseas, vômitos e diarreia (Garrido et al., 2010; Halbedel et al., 2020).

2.3.1 *Listeria* em aves

As aves de corte são reconhecidas como portadoras assintomáticas de *Listeria monocytogenes* e, em casos raros, podem desenvolver infecções clínicas (Wesley, 2007; Rothrock Jr. et al., 2017). Esse estado de portador faz dos lotes um foco primário de colonização e disseminação do patógeno na cadeia produtiva (Souza, 2021). A

prevalência da bactéria em granjas é variável, sendo influenciada por fatores como país, manejo, linhagem das aves e tipo de amostra (Rothrock Jr. et al., 2017), com detecção reportada em cama, poeira, ração e fezes, em taxas que variam de 0 a 46,2% (Chemaly et al., 2008; Roberts et al., 2020).

Nos abatedouros, falhas nos procedimentos de higienização podem levar à contaminação cruzada, disseminando a bactéria para as carcaças e o ambiente (Dhama et al., 2013; Lofstedt, 2019). Contudo, a real prevalência e dinâmica de *L. monocytogenes* em aves e produtos avícolas no cenário nacional ainda não são suficientemente conhecidas.

Do ponto de vista da segurança alimentar, a presença deste patógeno em produtos avícolas configura um risco multifacetado. O perigo reside tanto na possibilidade de sobrevivência em produtos que passam por cocção inadequada, quanto na emergência de isolados multirresistentes, capazes de transferir genes de resistência antimicrobiana, amplificando o impacto na saúde pública (Jamshidi e Zeinali, 2019).

2.3.2 Importância em saúde pública

A presença deste patógeno constitui um significativo risco à saúde pública, estando frequentemente associada a surtos de doenças transmitidas por alimentos contaminados (Wing e Gregory, 2002; Orsi e Wiedmann, 2016).

Em 2023, 30 países relataram 2.993 casos confirmados de listeriose na União Européia, sendo o maior número anual de casos desde o início da vigilância. Alemanhã, Franca e Espanha, reportaram os maiores números de casos respectivamente (663, 538, 428), correspondendo a 54,4% de todos os casos ocorridos na EU (EFSA/ECDC, 2024). A Irlanda, em junho de 2025, enfrentou um surto extenso de listeriose, a investigação aponta a contaminação em refeições prontas congeladas (EFSA 2025; Food Safety Authority of Ireland, 2025). No Brasil há subnotificação de casos/surtos de listeriose. O CDC estima que cerca de 1.600 pessoas desenvolvem listeriose a cada ano e cerca de 260 óbitos decorrem da doença (CDC, 2023).

A listeriose constitui um problema de saúde pública significativo, uma vez que a combinação de características do patógeno como sua capacidade de sobrevivência,

crescimento em condições adversas e alta patogenicidade, resulta em infecções de grande severidade (Vasconcelos e Marin, 2008). A doença apresenta baixa incidência, porém altas taxas de hospitalização e mortalidade, configurando-se como uma das DTHAs mais graves, especialmente em regiões de alta renda como a União Europeia (EFSA, 2024).

Os grupos populacionais mais suscetíveis incluem indivíduos imunocomprometidos, idosos (com mais de 65 anos), gestantes, recém-nascidos e fetos (Gasanov, 2005; Denny e MClauchlin, 2008). Para esses grupos, a infecção por *L. monocytogenes* acarreta riscos substanciais de complicações graves.

A principal via de transmissão é alimentar, com a maioria dos surtos associada a alimentos prontos para o consumo de origem animal, como carnes, laticínios, ovos e pescados (Jordan e MCauliffe, 2018; Gray et al., 2021). Esse risco é ampliado pela falta de uma barreira térmica ou sanitária final antes do consumo, permitindo que o patógeno seja ingerido ainda viável (Buchanam et al., 2018).

Nesse contexto, a segurança alimentar emerge como prioridade crítica. A detecção e mitigação de patógenos veiculados por alimentos, como *L. monocytogenes*, são essenciais não apenas para a conformidade regulatória, mas sobretudo para prevenir surtos, reduzir hospitalizações, evitar complicações de longo prazo e, consequentemente, diminuir a carga global da doença e proteger a saúde pública (Scallan et al., 2011).

2.3.3 Informações a respeito de *Listeria* spp. no Brasil

Diversos países determinam a quantidade de microrganismos permitidos em alimentos, leis específicas regem principalmente os produtos que são prontos para consumo (Jay, 2005). No Brasil, temos a Resolução RDC 331/2019 e a IN 60 (BRASIL, 2019) que reconhece a *L. monocytogenes* como um patógeno de importância nos alimentos e estabelece que nenhuma amostra apresente resultado acima de 10^2 UFC (Unidades Formadoras de Colônia) em cinco unidades amostrais coletadas de alimentos prontos para o consumo. O MAPA, instituiu a IN SDA/MAPA nº 9, de 8 de abril de 2009 , visando o controle oficial de *Listeria monocytogenes*, com o objetivo de detectar a presença desse patógeno em produtos de origem animal prontos para consumo (Brasil, 2009)

De acordo com o banco de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) do Ministério da Saúde, entre 2000 e 2019, apenas dois casos de surtos alimentares associados à *Listeria* spp. foram notificados no Brasil. Em 2007, duas pessoas adoeceram após exposição à carne suína contaminada e, em 2009, 17 pessoas foram afetadas por um surto causado pela ingestão de produtos à base de ovos, ambos notificados no Rio Grande do Sul (MS, 2022).

Apesar dos números de detecção de *Listeria* spp, terem sido baixos (0,96%) em amostras de carnes e laticínios em 2019 (BRASIL, 2009; MAPA, 2020), essas categorias de alimentos são importantes para o Brasil, devido ao comércio internacional, uma vez que os países importadores estipulam a ausência desse patógeno em alimentos prontos para consumo. Além disso, a presença de *L. monocytogenes* causa sérios impactos financeiros e até mesmo a proibição da entrada desses produtos nos países (Neri et al., 2019; Olanya et al., 2019).

Mesmos com raros surtos descritos no Brasil, estudos têm demonstrado a circulação desse patógeno em diversos produtos alimentícios, portanto é necessário fortalecer a comunicação entre a rede pública de saúde e a vigilância alimentar, auxiliando no monitoramento de casos e fortalecendo as investigações epidemiológicas (Costa et al., 2022).

2.3.4 Resistência aos antimicrobianos em *Listeria* spp.

A investigação da resistência a antibióticos em *Listeria monocytogenes* é de extrema relevância, considerando seu potencial zoonótico e os impactos na saúde pública (Coban et al., 2019). Estudos destacam que o aumento na taxa de resistência desse patógeno está associado ao uso indiscriminado de antibióticos na agricultura, na criação animal e em humanos (Baquero et al., 2020). Essa preocupação se amplia diante da prevalência de patógenos multirresistentes em aves, como *Listeria* spp., que representam um risco crítico para a biossegurança alimentar. As aves são um importante reservatório desses microrganismos, e como os produtos avícolas constituem uma das principais fontes de proteína para milhões de pessoas (FAO, 2025).

Há um potencial surgimento de cepas resistentes a antimicrobianos, o que torna esse microrganismo um alvo crítico para a avaliação da segurança de produtos

alimentícios (Akbar e Anal, 2013). No entanto, assim como outros patógenos de importância em saúde pública, as espécies de *Listeria* podem desenvolver resistência a antimicrobianos de forma rápida e adaptativa, característica que representa uma ameaça crescente tanto para a saúde humana quanto animal (Luque-Sastre et al., 2018).

Embora alguns mecanismos de resistência intrínseca em espécies *de Listeria* tenham sido descritos, a maioria desenvolve resistência a antibióticos por meio mecanismos adquiridos que incluem bombas de efluxo e elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons, e respostas adaptativas ao estresse (Markovich et al., 2024; Matereke e Okoh, 2020).

A resistência antimicrobiana de *Listeria* spp tem aumentado ao longo do tempo, com cepas resistentes a uma variedade de antimicrobianos, usados rotineiramente para fins terapêuticos (Rippa et al., 2024). Pesquisas revelam que isolados de *L. monocytogenes* apresentam altos níveis de resistência a antibióticos, incluindo amoxicilina, cefotaxima, norfloxacino, tetraciclinas e gentamicina (Markovich et al., 2024), além de penicilinas (G e ampicilina), quinolonas, aminoglicosídeos, macrolídeos (eritromicina), tetraciclinas (minociclina), trimetoprima e lincosamidas (Paiva et al., 2024; Wang et al., 2023). Isso tem gerado uma preocupação legítima e intensa para a comunidade médica e científica, bem como para as autoridades de saúde pública, especialmente considerando a alta taxa de mortalidade da listeriose e o risco de falha no tratamento com antibióticos de primeira linha.

2.3.5 Fatores de virulência

Listeria monocytogenes, por ser patógeno intracelular invasivo, emprega um sofisticado conjunto de fatores de virulência que possibilitam sua colonização do trato gastrointestinal, sobrevivência intracelular e subsequente disseminação sistêmica no hospedeiro (Sibanda e Buys, 2022). Há variações no grau de patogenicidade da espécie *L. monocytogenes,* que abrange clones de hipovirulência e de hipervirulência (Liu et al., 2007; Maury et al., 2016).

Uma vez dentro do hospedeiro, *L. monocytogenes* desenvolve mecanismos variados e sofisticados para invadir diferentes tipos de células eucarióticas, sobreviver intracelularmente, escapar do sistema imunológico e se disseminar pelo corpo

(Radoshevich e Cossart, 2018). Além disso, ao atravessar as barreiras hematoencefálica e placentária, o patógeno desencadeia complicações graves (meningite, aborto), representando um risco elevado de mortalidade para indivíduos imunocomprometidos e gestantes (Schlech, 2019; Charlier et al., 2020).

A patogenicidade de *Listeria monocytogenes* está diretamente associada a um conjunto de genes de virulência agrupados em ilhas de patogenicidade. Os principais estão localizados na Ilha de Patogenicidade *Listeria* 1 (LIPI-1), que inclui os genes *prfA*, *plcA*, *plcB*, *hlyA*, *mpl* e *actA* (Hadjilouka et al., 2018), e na Ilha de Patogenicidade *Listeria* 2 (LIPI-2), que abrange genes como *inlA, inlB, inlC* e *inlJ* (Zhang et al., 2019).

Os genes da LIPI-2, em particular, codificam proteínas conhecidas como internalinas. As internalinas A e B (codificadas por *inlA* e *inlB*) são essenciais para a adesão e internalização da bactéria, mediando sua entrada nas células epiteliais intestinais e em células não epiteliais, respectivamente (Pentecost et al., 2010; Chen et al., 2011; Gründler et al., 2013). Após a invasão, o gene *actA* da LIPI-1 desempenha um papel crucial, codificando uma proteína que induz a polimerização de filamentos de actina no citoplasma da célula hospedeira, permitindo o deslocamento intracelular e a disseminação da bactéria (Travier et al., 2013).

Cepas de *L. monocytogenes* ainda secretam a toxina listeriolisina (LLO), capaz de lisar a membrana do vacúolo fagocítico (Gedde et al., 2000). Esse mecanismo impede a fusão com o lisossomo, liberando a bactéria para o citoplasma da célula hospedeira, onde pode então se replicar (Schuppler e Loessner, 2010).

3. Objetivos

3.1 Objetivos gerais

Avaliar a ocorrência de *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* em plantas de corte, com o intuito de caracterizar o perfil de contaminação, os perfis moleculares e a resistência antimicrobiana dos isolados, visando contribuir para o aprimoramento das medidas de controle higiênico-sanitário e para redução dos riscos à saúde pública associados ao consumo de produtos avícolas.

3.2. Objetivos específicos

Determinar a frequencia e a distribuição dos patógenos *Salmonella* enterica, *Campylobacter* spp, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* em toda linha de processamento nas plantas de abatedouros de frangos de corte

Adaptar o protocolo de isolamento de *Campylobacter* spp. com base nas diretrizes da norma ISO 10272-1:2017, comparando-o também com a detecção por qPCR antes e depois do enriquecimento seletivo de amostras provenientes de abatedouros de frangos de corte.

Caracterizar o perfil de resistência antimicrobiana (RAM) de isolados de *Salmonella* enterica e *Escherichia coli* frente a uma bateria de antibióticos de importância clínica e veterinária, utilizando o sistema automatizado VITEK® 2.

Identificar e classificar os sorovares de *Salmonella* quanto ao perfil de múltipla resistência (MDR)

Investigar a presença dos genes de virulência *cst-II* (responsável pela síntese de lipooligossacarídeos que mimetizam antígenos neuronais, associado à Síndrome de Guillain-Barré) e *neuA* (essencial para a síntese de cápsula e colonização) em amostras de *Campylobacter* positivas por PCR.

Identificar e comparar as variantes alélicas dos genes *cstII* e neu*A*, , através de sequenciamento de DNA e análise de cladogramas, a fim de compreender sua distribuição e padrões evolutivos.

4. Referências

ABPA (2024). Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2024**. https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2024/04/ABPA-Relatorio-Anual-2024_capa_frango.pdf

Abu-Madi M, Behnke JM, Sharma A, Bearden R, Al-Banna N. (2016). Prevalence of Virulence/Stress Genes in Campylobacter jejuni from Chicken Meat Sold in Qatari Retail Outlets. **PLoS One**. Jun v.3, p.11(6):e0156938. doi: 10.1371/journal.pone.0156938. PMID: 27258021; PMCID: PMC4892673.

Alegbeleye OO, Singleton I, SantAna AS. (2018). Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: A review. **Food Microbiology,** v. 73, p. 177–208.

Alekshum MN, Levy SB. (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. **Cell Cambridge**, 128(6), 1037–1050.

Allain V, Chemaly M, Laisney MJ, Rouxel S, Quesne S, Le Bouquin S. (2014). Prevalence of and risk factors for Campylobacter colonisation in broiler flocks at the end of the rearing period in France. Br **Poult Sci**, v.55, n.4, p. 452-459.

Allos BM, Lippy FT, Carlsen A, Washburn RG, Blaser MJ. (1998). Campylobacter jejuni strains from patients with Guillain-Barré syndrome. **Emerg Infect Dis**. Apr-Jun, v. 4, n.2, p.263-8. doi: 10.3201/eid0402.980213. PMID: 9621196; PMCID: PMC2640125.

Akbar A, Anal AK. (2013). Prevalence and antibiogram study of Salmonella and Staphylococcus aureus in poultry meat. Asian Pac**. J. Trop. Biomed.** n.3, p.163–168

Andreatti Filho RL, OKAMOTO AS. (2013). Salmonella e saúde intestinal. In: **CONFERÊNCIA FACTA-PRÊMIO LAMAS**, 10 a 12 de junho de 2013. Campinas. Anais... Campinas: FACTA, 2013. p.393-424. 1.

Antunes P, Mourão J, Campos J. (2016). Salmonellosis: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 110-121.

Asakura M, Samosornsuk W, Hinenoya A, Misawa N, Nishimura K, Matsuhisa A, Yamasaki S. (2008). Development of a cytolethal distending toxin (*cdt*) gene-based species-specific multiplex PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter fetus*, **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v.52, n 2, p. 260–266, https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00369.x

Ask B, van der Waaij EH, Stegeman JA, van Arendonk JA. (2006). Genetic variation among broiler genotypes in susceptibility to colibacillosis. **Poult Sci.** Mar; v.85, n.3, p. 415-21. doi: 10.1093/ps/85.3.415.

Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, Nisar MA, Alvi R F, Aslam MA, Qamar MU, Salamat MKF, Baloch Z. (2021). Antimicrobial resistance in the context of 'One Health' and the realities of antimicrobial use in agriculture. **Journal of Hazardous Materials**, v.419.

Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. (1999). Campylobacter jejuni--an emerging foodborne pathogen. **Emerg Infect Dis.** Jan-Feb; v.5, n.1, p.28-35. doi: 10.3201/eid0501.990104. PMID: 10081669; PMCID: PMC2627687.

Azeredo LI; Luchese RH, Lauria-Filgueira AL. (2010). Campylobacter spp em carne de ave crua: avaliação da etapa de resfriamento. **Rev Inst Adolfo Lutz**. v.69, n.4, p.518-24.

Azevedo PA, Faria FC, Costa MM, Oliveira AA. (2015). Multidrug-resistant *Escherichia coli* from poultry and poultry-derived products in South of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 4, p. 1055-1060.

Back, A. (2019). Manual de doenças das aves: Doenças bacterianas - Salmonelose. 3. ed. Cascavel: editora integração, p.97-123.

Bajpai VK, Kamle M, Shukla S, Mahato DK, Chandra P, Hwang SK; Kumar P, Huh YS, Han YK. (2019). Prospects of using nanotechnology for food preservation, safety, and security. Journal of Food and Drug Analysis, v. 26, n. 4, p. 1201–1214,

Balian SC. (2009). Campilobacteriose. In: REVOLLEDO, Liliana; FERREIRA, Antonio J. Piantino. **Patologia Aviária.** Barueri: Manole Ltda. Cap. 4, p. 34-48.

Bardoň J, Kolář M, Karpíšková R, Hricová K. (2011).Prevalence of thermotolerant Campylobacter spp. in broilers at retail in the Czech Republic and their antibiotic resistance, **Food Control,** v. 22,n.2, p.328-332.ISSN 0956-7135, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.08.001.

Baquero FF, Lanza V, Duval M, Coque TM. (2020). Ecogenetics of antibiotic resistance in Listeria monocytogenes. **Mol Microbiol**. Mar, v. 113, n.3, p.570-579. doi: 10.1111/mmi.14454.

Barbour EK, Ahmadieh D, Harakeh S, Kumosan T. (2012). Impact of Antimicrobials use in chickens on emergence of drug-resistant Campylobacter organisms in humans. **The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents**, v.2, n.4.

Barilli E, Bacci C, Villa ZS, Merialdi G, D'Incau M, Brindani F, Vismarra A. (2018). Antimicrobial resistance, biofilm synthesis and virulence genes in Salmonella isolated from pigs bred on intensive farms. **Italian Journal of Food Safety**, v.7, p.7223.

Berchieri Júnior A, Freitas Neto O.C. Salmoneloses. (2009). In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E.N; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F. (Eds.). **Doenças das aves,** 2.ed. Campinas: FACTA, 2009, p.435-454.

Berhanu A, Fulasa S. (2020). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from poultry farms in and around Modjo town, Ethiopia. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, v. 11, p. 111–121.

Bersot LS, Cavicchioli VQ, Burin, RCK. (2019). Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Diversity of *Salmonella* spp. Isolated from a Pig Slaughterhouse in Southern Brazil. **Pathogens,** v.8, n.4. **DOI:** 10.3390/pathogens8040204

Bertão AMS, Saridakis HO. (2007). Escherichia coli produtora de toxina shiga (STEC): principais fatores de virulência e dados epidemiológicos. **Semin. Cienc. Biol. Saude** [Internet]. 15º de dezembro de 2007 [citado 5º de janeiro de 2026];28(2):81-92. Disponível em: https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/3472

Bhunia AK. (2008). ***Campylobacter jejuni***. In: BHUNIA, A. K. **Foodborne Microbial Pathogens**: Mechanisms and Pathogenesis. New York: Springer. p. 199-215.

Billah MM, Rahman S. (2024). Salmonella in the environment: A review on ecology, antimicrobial resistance, seafood contaminations, and human health implications, **Journal of Hazardous Materials Advances**, v.13.100407, ISSN 2772-4166, https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2024.100407.

Borges KA, Cisco IC, Furian TQ, Tedesco DC, Rodrigues LB, Do Nascimento VP, Dos Santos LR. (2020). Detection and quantification of Campylobacter spp. in Brazilian poultry processing plants. **J Infect Dev Ctries**. Jan v.31;14(1), p.109-113. doi: 10.3855/jidc.11973. PMID: 32088692.

Bortoli WS, Dickel EL, Souza JDO, Lopes GV, Vaz EK. (2017). Occurrence of *Campylobacter* spp. in chilled chicken carcasses slaughtered in the west region of Santa Catarina, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.45, n.1, p.1-6.

Bolton FJ, Hutchinson DN, Parker G. (1988) Reassessment of selective agars and filtration techniques for isolation of*Campylobacter* species from faeces. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.** v.7, p.155–160. https://doi.org/10.1007/BF01963069]

Boubendir S, Arsenault J, Quessy S, Thibodeau A, Fravalo P. (2020). Research paper Salmonella contamination of broiler chicken carcasses at critical steps of the slaughter process and in the environment of two slaughter plants: Prevalence, genetic profiles and association with the final carcass status Salmonella contamination of broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 1, n. 2, p. 321-332. doi: 10.4315/JFP-20-250.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF: ANVISA, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria SDA nº 17, de 25 de janeiro de 2013**. Institui Comissão Científica Consultiva em Microbiologia de Produtos de Origem Animal. Brasília, DF: MAPA, 2013.

BRASIL (2019) Ministério da Saúde do Brasil. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil Informe 2018. Brasília: [s.n.]. 2019.

BRASIL (2019). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa nº 60**, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 dez. 2019.

BRASIL. (2022) Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa nº 161**, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, ed. 124, p. 110, 4 jul. 2022. Disponível em: www.in.gov.br. Acesso em: 2 jan. 2026.

BRASIL. (2024) Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa nº 313**, de 10 de julho de 2024. Altera a Instrução Normativa - IN nº 161, de 1º de julho de 2022, que estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, ed. 135, p. 123, 16 jul. 2024. Disponível em: Portal da ANVISA. Acesso em: 2 jan. 2026.

BRASIL. (2025). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (SVSA). **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil - Painel de Monitoramento**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2025. Dados acessíveis pelo portal Ministério da Saúde - DTHA.

Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe RV, Swaminathan B. (2000). Salmonella nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 7, p. 2465-2467.

Bronzwaer S, Hugasa M, Collins JD, Newel DG, Robinson T, Makela AP, Havellar A. (2009). Scientific Colloquium-assessing health benefits of controlling Campylobacter in the food chain, International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 131 (2-3), p. 284-285.

Buchanan RL, Gorris LGM, Hayman MM. et al. (2018). A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. **Food Control**, v. 85, p. 447-477.

Bull SA, Allen VM, Domingue G, Jørgensen F, Frost JA, Ure R, et al. (2006). Sources of Campylobacter spp. Colonizing Housed Broiler Flocks during Rearing. **Appl Environ Microbiol**, v. 72, pp. 645-652

Bundurus IA, Balta I, Pet I, Stef L, Popescu CA, McCleery D, Lemon J, Callaway T, Douglas A, Corcionivoschi N. (2024). Mechanistic concepts involved in biofilm associated processes of *Campylobacter jejuni*: Persistence and inhibition in poultry environments. **Poult. Sci**. *v.10*, 104328.

Butzler JP. (2004). Campylobacter, from obscurity to celebrity. Clinical Microbiology and Infection, Paris, v. 10, p. 868-876.

Burnham PM, Hendrixson DR. (2018). Campylobacter jejuni: collective components promoting a successful enteric lifestyle. **Nat Rev Microbiol**. Sep; v.16, n.9, p.551-565. doi: 10.1038/s41579-018-0037-9. PMID: 29892020.

Byrne VV. (2014). Listeria monocytogenes em vegetais frescos, congelados e prontos para o consumo e resistência a antimicrobianos. **Dissertação (Mestrado em Ciências de alimento) -** Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

Campos, J. et al. (2021). **Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae** in the Brazilian poultry production chain: a One Health perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 604544. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.604544

Caruzo LIZ. Campylobacter spp. na linha de produção de carne de aves. (2010). 52f. **Dissertação. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Casagrande RM, Guerra G, Castro P, Spanamberg L, Silva A, Cardoso S, Driemeier MD. (2017). Caracterização anatomopatológica e bacteriológica em frangos de corte condenados totalmente por colibacilose sob Serviço de Inspeção Federal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v37, p.949-957. 10.1590/s0100-736x201700090000.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. (2018). National Enteric Disease Surveillance: **Salmonella Annual Report, 2016**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2018.

CDC (2024). Centers For Disease Control And Prevention (CDC). Salmonella. Serotypes and the Importance of Serotyping Salmonella. Atlanta, Georgia: CDC, 9 set. 2022.

CDC (2024). Centers For Disease Control And Prevention (CDC). BEAM (Bacteria, Enterics, Ameba, and Mycotics) Dashboard. Atlanta, Georgia: CDC, 12 set. 2024-b. Disponível em: www.cdc.gov/ncezid/dfwed/BEAM-dashboard.html. Acesso em: 29 nov. 2024.

CDC. (2024). CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Salmonella Outbreaks**: 2024 Outbreaks. Atlanta: CDC, 2024. Disponível em: www.cdc.gov.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. (2025). Estimates: Burden of Foodborne Illness in the United States. CDC Food Safety, 2025. Disponível em: <https://www.cdc.gov/food-safety/php/data-research/foodborne-illness-burden/index.html>.

Cha S, Lee H, Kim S, Lee JH, Choi EH, Lee YJ. (2020).Comparative genomic analysis of *Campylobacter jejuni* strains associated with Guillain-Barré syndrome in South Korea. **Front Microbiol**. v.11:1860.

Chakroun I, Mahdhi A, Morcillo P, Cordero H, Cuesta A, Bakhrouf A, Mahdouani K, Esteban MA (2018). Motility, biofilm formation, apoptotic effect and virulence gene expression of atypical Salmonella Typhimurium outside and inside Caco-2 cells, **Microbial Pathogenesis,** v.114, p. 153-162. ISSN 0882-4010.

Charlier C, Disson O, Lecuit M. (2020). Maternal-neonatal listeriosis. **Virulence**, Dec;v. 11, n.1, p.391-397. doi: 10.1080/21505594.2020.1759287.

Chang C, Miller JF. (2006). Campylobacter jejuni colonization of mice with limited enteric flora. **Infect Immun.** Sep, v.74, n.9, p.5261-71. doi: 10.1128/IAI.01094-05. PMID: 16926420; PMCID: PMC1594848.

Chaudhari R, Singh K, Kodgire P. (2023). Biochemical and molecular mechanisms of antibiotic resistance in Salmonella spp. **Res Microbiol**. Jan-Feb; v.174, n.1-2:103985. doi: 10.1016/j.resmic.2022.103985

Chemaly M, Toquin MT, Le Nôtre Y, Fravalo P. (2008). Prevalence of Listeria monocytogenes in poultry production in France. **J Food Prot.** Oct, v.71, n.10, p.1996-2000. doi: 10.4315/0362-028x-71.10.1996.

Chen, J. et al. (2009). Molecular characteristics and virulence potential of Listeria monocytogenes isolates from Chinese food systems. **Food Microbiology**, v. 26, n. 1, p. 103–111.

Coban A, Pennone V, Sudagidan M, Molva C, Jordan K, Aydin A. (2019). Prevalence, virulence characterization, and genetic relatedness of Listeria monocytogenes isolated from chicken retail points and poultry slaughterhouses in Turkey. **Braz J Microbiol**. Oct; v.50, n.4, p.1063-1073. doi: 10.1007/s42770-019-00133-

Codex Alimentarius Commission. (2021) Code of Practice to Minimize and Contain Foodborne Antimicrobial Resistance (CXC 61-2005, amended 2021). Rome: FAO/WHO; 2021.

Codex Alimentarius Commission. (2023) Guidelines on Integrated Monitoring and Surveillance of Foodborne Antimicrobial Resistance (CXG 94-2023). Rome: FAO/WHO; 2023.

Cortez ALL, Carvalho ACFB, Scarcelli E, Miyashiro S, Vidal-Martins AMC, Bürger KP. (2006). Survey of Chicken abattoir for the presence of Campylobacter jejuni and

Campylobacter coli. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 6, p. 306- 310.

Corcionivoschi N, Cates CU, Gundogdu O, Bourke B, Ridley KA. (2015). The role of the type VI secretion system in *Campylobacter* pathogenesis. **Curr Opin Gastroenterol.** v.31, n.1, p.35-40.

Costa PV. et al. (2022). Listeria monocytogenes: challenges of microbiological control of food in Brazil. **Food Sci. Technol**, v. 42. p. 1-8, e08322.

Crawshaw TR, Chanter JI, Young SC, Cawthraw S, Whatmore AM, Koylass MS. (2015). Isolation of a novel thermophilic Campylobacter from cases of spotty liver disease in laying hens and experimental reproduction of infection and microscopic pathology. **Vet. Microbiol.** v.179, p.315–321. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.06.008.

Croxen MA, Finlay BB. (2010). Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. **Nat Rev Microbiol**. Jan[, v.8, n.1, p.26-38. doi: 10.1038/nrmicro2265. Erratum in: Nat Rev Microbiol. 2013 Feb;11(2):14

Cruz C, Rodrigues TS, Marques RF, Medeiros JAS, Medeiros AN, Oliveira AA. (2021). A systematic review of *Campylobacter* species in the Brazilian poultry production chain. **Brazilian Journal of Microbiology,** v.*52*, n.4, p. 2227–2243. https://doi.org/10.1007/s42770-021-00596-3

GSO CAC (2008). Standardization Organization. Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of Listeria monocytogenes in foods. GSO CAC/GL 61:2008. Riyadh: GSO.

EFSA (2020). European Food Safety Authority. Strategy 2020. **Trusted science for safe food.**
https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/strategy2020.pdf

Damas TMK, Marassi AE. (2010) Campylobacter spp.: Agente etiológico de doenças de origem alimentar. **Higiene Alimentar**, v.24, n.180-181, p.85-90.

Damjanova I, Majoros L, Tóth Á, Pászti J, Belák Á, Marjai M, Fekete ZJ, Szabó D. (2011). Persistence of *Campylobacter jejuni* clones along the poultry production chain in Hungary. **Microbiology and Immunology**, [S. l.], v. 55, n. 1, p. 1-9. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2010.00282.x.

Dasti JI, Tareen AM, Lugert R, Zautner AE, Gross U. (2010). Campylobacter jejuni: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. **Int J Med Microbiol**. Apr; v.300, n.4, p.205-11. doi: 10.1016/j.ijmm.2009.07.002. Epub 2009 Aug 8. PMID: 19665925.

Dhama K, Verma A, Rajagunalan S, Kumar A, Tiwari R, Chakraborty S, Kumar, Rajesh. (2013). Listeria monocytogenes Infection in Poultry and its Public Health Importance with Special Reference to Food Borne Zoonoses. **Pakistan journal of biological sciences:** PJBS. 16. 301-8. 10.3923/pjbs.2013.301.308

de Oliveira MG, Rizzi C, Galli V, Lope GV, Haubert L, Dellagostin OA. (2019). Presence of genes associated with adhesion, invasion, and toxin production in Campylobacter jejuni isolates and effect of temperature on their expression. **Can. J. Microbiol.** v.65, p.253–260. doi: 10.1139/cjm-2018-0539

DE Oliveira Almeida TJ, DE Assis AS, Mendonça M, DE Queiroz Rolim MB. (2018). Causas de condenação de carcaças de Gallus gallus domesticus em abatedouros frigoríficos sob Inspeção Federal no Nordeste do Brasil. **Medicina Veterinária** (UFRPE), Recife/PE, v.11, p. 285-291.

de Souza GF, da Silveira SLR, Furian T, Borges KA, de Oliveira FS, de Moraes LB, de Souza HLM, Pippi Salle CT. (2016). Classification of Avian Pathogenic Escherichia coli by a Novel Pathogenicity Index Based on an Animal **Model Acta Scientiae**

Veterinariae, vol. 44, 2016, pp. 1-6 Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre, Brasil

Deckert A, Reid-Smith R, Tamblyn S, Seliske P, Irwin R, Dewey C, Boerlin P, Mcewen SA, Valdivieso-Garcia A. (2010). Prevalence and Antimicrobial Resistance in Campylobacter spp. Isolated from Retail Chicken in Two Health Units in Ontario, **Journal of Food Protection,** v. 73, n.7, p.1317-1324ISSN 0362-028X, https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.7.1317.

Debruyne L, Samyn E, De Brandt E, Vandenberg O, Heyndrickx M, Vandamme P. (2008). Comparative performance of different PCR assays for the identification of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. **Res Microbiol.** Mar, v.159, n.2, p.88-93. doi: 10.1016/j.resmic.2007.11.020. Epub 2008 Jan 4. PMID: 18272350.

Degala H, Komahan D, Sannata B, Boddu S, Williams LL, Chintagari NR. (2018). Evaluation of non-thermal hurdle technology for ultraviolet-light to inactivate *Escherichia coli* K12 on goat meat surfaces. **Food Control**, v.*90*, p.113–120.

Denny J, McLauchlin J. (2008). Human Listeria monocytogenes infections in Europe--an opportunity for improved European surveillance. **Euro Surveill**. Mar v.27, n.13(13):8082.

Dieltjens L, Appermans K, Lissens M, Lories B, Kim W, Van der Eycken EV, Foster KR, Steenackers HP. (2020). Inhibiting bacterial cooperation is an evolutionarily robust anti-biofilm strategy. Nat Commun. Jan v.9, n.11(1):107. doi: 10.1038/s41467-019-13660-x

Dos Santos AMP, Ferrari RG, Conte-Junior CA. (2019). Virulence Factors in Salmonella Typhimurium: The Sagacity of a Bacterium. **Curr Microbiol**. Jun, v. 76, n.6, p.762-773. doi: 10.1007/s00284-018-1510-4. Epub 2018 May 21

Du X, Wang N, Ren F, Tang H, Jiao X, Huang J. (2016). *cj0371*: a novel virulence-associated gene of *Campylobacter jejuni*. **Front. Microbiol**. v.7:1094 10.3389/fmicb.2016.01094

Du Y, Wang C, Ye Y, Liu Y, Wang A, Li Y. (2018). Molecular identification of multidrug-resistant Campylobacter species from diarrheal patients and poultry meat in Shanghai, China. **Frontiers in Microbiology**, v.9, p.1-8.

Duarte A, Botteldoorn N, Coucke W, Denayer S, Dierick K, Uyttendaele M. (2014). Effect of exposure to stress conditions on propidium monoazide (PMA)-qPCR based Campylobacter enumeration in broiler carcass rinses. **Food Microbiol**. 2015, 48, 182–190. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.12.011.

Dugar G, Herbig A, Förstner KU, Heidrich N, Reinhardt R, Nieseltl K, Sharma CM. (2016). A global regulatory RNA network in *Campylobacter jejuni*. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. 12, p. 5880–5896.

Duim B, Win AC, Van Bellkum A, Rigter A, Van Leewen NWJ, Endtz HP, Wagennar JA. (2000). Amplified fragment length polymorphism analysis of Campylobacter jejuni strains isolated from chickens and patients with gastroenteritis or Guillian-Barré or Miller Fisher syndrome. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 66, p. 3917- 3923.

Dziva F, Stevens MP. (2008). Colibacillosis in poultry: unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic Escherichia coli in their natural hosts. Avian Pathol. Aug, v. 37, n. 4, p.355-66. doi: 10.1080/03079450802216652.

EFSA (2017). European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control. (2017). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal, 15*(12), 5077. doi.org

EFSA (2022). European Food Safety Authority. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 20, n. 12, e07666.

EFSA (2023) European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2023 Zoonoses repor. published: 10 December 2024. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106

EFSA (2025). SCIENTIFIC REPORT. The European Union One Health 2024 Zoonoses **Report European Food Safety Authority (EFSA)** | European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) Approved: 6 November 2025. DOI: 10.2903/j.efsa.2025.9759.

EFSA (2024) .European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. (2024). *The European Union One Health 2024 Zoonoses Report.* EFSA Journal, 22(12), e2024001. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.2024001

Ellerbroek LI, Lienau JÁ, Klein G. (2010) *Campylobacter* spp. in Broiler Flocks at Farm Level and the Potential for Cross-Contamination During Slaughter. **Zoonoses and Public Health**, 57: e81-e88. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01267.x

Ellis-Iversen J, Ridley A, Morris V, Sowa A, Harris J, Atterbury R, Sparks N, Allen V. (2012). Persistent environmental reservoirs on farms as risk factors for Campylobacter in commercial poultry. **Epidemiol Infect.** May; v.140, n.5, p.916-24. doi: 10.1017/S095026881100118X. Epub 2011 Jul 25. PMID: 21781366.

Elmi A, Watson E, Sandu P, Gundogdu O, Mills DC, Inglesfield S, et al. (2016). *Campylobacter jejuni* outer membrane vesicles play a crucial role in bacterial interactions with human intestinal epithelial cells. **Front Microbiol**. v.7:429.

Engberg J. (2006) Contributions to the epidemiology of *Campylobacter* infections. A review of clinical and microbiological studies. **Dan. Med. Bull**. v.53**,** p.361–389.

Espinoza-Erazo VP, Vela-Chauvin MG, Collantes-Vela JC, Zapata-Mena S, Machado A (2025). Biofilms of *Salmonella*: Implications for Food Safety and Public Health. **Foodborne Pathog Dis**. Nov 19. doi: 10.1177/15353141251389597. Epub ahead of print. PMID: 41273791.

European Food Safety Authority (EFSA). (2023). European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2021/2022. **EFSA J.** v.21(12):e08401.

EUROPEAN COMMISSION. **RASFF 2024 annual report**. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2025.

Facuri, Janaina Costa Feistel (2018). Isolamento e caracterização molecular de *Campylobacter* termotolerantes de origem avícola.Tese **(Doutorado em Ciência Animal)** – Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018. Disponível em: repositorio.bc.ufg.br.

Fardsanei F, Soltan Dallal MM, Douraghi M, Memariani H, Bakhshi B, Zahraei Salehi T, Nikkhahi F. (2018). Antimicrobial resistance, virulence genes and genetic relatedness of Salmonella enterica serotype Enteritidis isolates recovered from human gastroenteritis in Tehran, Iran. **J Glob Antimicrob Resist**. Mar; v.12, p.220-226. doi: 10.1016/j.jgar.2017.10.005.

FAO (2025). OCDE. OECD-FAO **Agricultural Outlook 2025-2034**. Paris/Roma: OCDE/FAO, 2025**.** Disponível em: www.agri-outlook.org

Ferrari RG, Rosario DKA, Cunha-Neto A, Mano SB, Figueiredo EES, Conte-Junior CA. (2019). Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. **Appl Environ Microbiol**. Jul 1;85(14):e00591-19. doi: 10.1128/AEM.00591-19.

Ferreira O, Campos LC. (2008). Salmonella, p.329-338. In: Althertum F. & Trabulsi L.R. (Eds), **Microbiologia.** 5ª ed. Atheneu, São Paulo.

Ferreira, AJP, Knöbl T (2000). Colibacilose aviária. In: Berchieri Junior A, Macari M (Eds). **Doença das aves**. Campinas: Facta, p. 197-207.

Fernandes SA, Tavechio AT, Ghilardi ÂCR, Almeida EA, Silva JMLD, Camargo CH, Tiba-Casas MR. (2022). Salmonella enterica serotypes from human and nonhuman sources in Sao Paulo State, Brazil, 2004-2020. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. Sep 30;64:e66. doi: 10.1590/S1678-9946202264066.

Fernández H. Virulence factors of *Campylobacter* species. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo.** v.50,n.2, p.61-70.

Finger JAFF, Squina FM, Tondo EC, de Mello FM. (2019). Overview of foodborne disease outbreaks in Brazil from 2000 to 2018. **Foods,** v. *8*, n.10), p.434. doi.org/10.3390/foods8100434

Flores AMPC, Melo CB. (2015). Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.37, n.1, p.65-72.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2022). United Nations Environment Programme (UNEP); World Health Organization (WHO); World Organisation for Animal Health (WOAH). One Health Joint Plan of Action (2022–2026): **Working together for the health of humans, animals, plants and the environment. Rome**: FAO; 2022.

Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO. (2024). FAO Statistical Yearbook 2024 – **World Food and Agriculture**. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Food and Drug Administration (FDA). (2021). **NARMS Integrated Report: 2019** [Internet]. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services; 2021.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); United Nations Environment Programme (UNEP); World Health Organization (WHO); World Organisation for Animal Health (WOAH). One Health Joint Plan of Action (2022–2026): Working together for the health of humans, animals, plants and the environment. Rome: FAO; 2022.

Food Safety Authority of Ireland. (2025, July 25). *Listeriosis outbreak under investigation* [Comunicado de notícias]. Recuperado de https://www.fsai.ie/news-and-alerts/latest-news/listeriosis-outbreak-under-investigation

Fonseca BB, Beletti ME, Melo RT, Mendonca EP, Levenhagem MA, Ueira-Vieira C, Rossi DA (2011) Transfer, viability and colonisation of *Campylobacter jejuni* in the chicken vitellus and in embryos. **Brit Poult Sci.** v.52, p.279-286.

Forsythe SJ. (2002). **Microbiologia da segurança alimentar** Porto Alegre: Artmed; 2002

Forsythe SJ. (2013). **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed.

Franchin PR, Aidoo KE, Batista CRV. (2005). Sources of poultry meat contamination with thermophilic Campylobacter before slaughter.**Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo,v. 36, n. 2, p. 157- 162.

Franchin PR, Ogilari PJ, Batista CRV. (2007). Frequency of thermophilic Campylobacter in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil slaughterhouse. **British Poultry Science**, Champaign,v. 48, n. 2, p. 127-132.

Frazão MR, Medeiros MIC, Duque SS, Falcão JP. (2017). Pathogenic potential and genotypic diversity of *Campylobacter jejuni*: a neglected food-borne pathogen in Brazil. **J. Med. Microbiol**. v.66, p.350–359.

Gagnon M, Berner AZ, Chervet N, Chassard C, Lacroix C. (2013). Comparison of the Caco-2, HT-29 and the mucus-secreting HT29-MTX intestinal cell models to investigate Salmonella adhesion and invasion. **J. Microbiol. Methods** v. 94, p.274–279. https:// doi.org/10.1016/j.mimet.2013.06.027.

Galán-Relaño Á, Valero Díaz A, Huerta Lorenzo B, Gómez-Gascón L, Mena Rodríguez MÁ, Carrasco Jiménez E, Pérez Rodríguez F, Astorga Márquez RJ. (2023). ***Salmonella*** **and Salmonellosis: An Update on Public Health Implications and Control Strategies. Animals** (Basel). Nov 27;13(23):3666. doi: 10.3390/ani13233666.

García-Sánchez L, Melero B, Diez AM, Jaime I, Canepa A, Rovira J. (2020). Genotyping, virulence genes and antimicrobial resistance of Campylobacter spp.isolated during two seasonal periods in Spanish poultry farms. Prev Vet Med. Mar; v.176, p.104935. doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.104935. Epub 2020 Feb 20. PMID: 32109783.

Gabriel, M. R. Campylobacter spp. na cadeia produtiva de suínos. 2010. 52 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias**) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

Gasanov U, Hughes D, Hansbro PM. (2005). Methods for the isolation and identification of Listeria spp. and Listeria monocytogenes: a review. **FEMS Microbiol** Rev. 2005 Novv.29, vn.5, p.851-75. doi: 10.1016/j.femsre.2004.12.002.

Garrido V, Vitas AI, García-Jalón I. (2010). Current Research, Technology and Education Topics in Appplied Microbiology and Microbial Biotechnology. Chapter: The

problem of Listeriosis and ready-to eat products: prevalence and persistence. Editors: Méndez-Vilas A. 1182–1189.

Ge B, Girard W, Zhao S, Friedman S, Gaines S, Meng J. (2006) Genotyping of Campylobacter spp. from retail meats by pulsed-field gel electrophoresis and ribotyping. **J. Appl. Microbiol**. v. 100, p.175–184.

Gedde MM, Higgins DE, Tilney LG, Portnoy DA. (2000). Role of listeriolysin O in cell-to-cell spread of Listeria monocytogenes. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 2, p. 999–1003.

Genigeorgis C. (1987). International course on salmonella and campylobacter. **Veterinary Quarterly**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 279-288.

Germano PML, Germano M. I. S. (2008). Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. Barueri, SP: Manole, 200, 229- 230; 317p.

Ghaffar A, Rehman AU, Masud F, Aziz T, Shahzad MA, Zeb F. (2021). Biofilm formation and the role of quorum sensing in *Campylobacter jejuni*. **Curr Microbiol**. v.78, n.6, p.2097-2106.

Gyles CL Fairbrother JM. (2010). Escherichia coli, p. 267-308. In: Gyles C.L., Prescott J.F., Songer J.G. & Thoen C.O. (Eds), Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 4th ed. Iowa: Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.

Godschalk, P. C. R., et al. (2006). Association between *Campylobacter jejuni* genotypes and the risk of Guillain-Barré syndrome. *Clinical Infectious Diseases*, 42(1), 22-29.

Gomes CN, Campioni F, Vilela F, Duque S, Falcão, J (2019). *Campylobacter coli* strains from Brazil can invade phagocytic and epithelial cells and induce IL-8 secretion. **PLoS One,** v. 14, n. 11, p. e0224433.

Gorain C, Singh A, Bhattacharyya S, Kundu A, Lahiri A, Gupta S, Mallick AI. (2020). Mucosal delivery of live Lactococcus lactis expressing functionally active JlpA antigen induces potent local immune response and prevent enteric colonization of Campylobacter jejuni in chickens. **Vaccine**. Feb v.11, n.38(7), p.1630-1642. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.12.064. Epub 2020 Jan 10. PMID: 31932136.

Gordon DM, Clermont O, Lermont O, Tolley H, Denamur E. (2008). Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. **Environmental Microbiology**, v. 10, n. 10, p. 2484-2496.

Gorka M, Nothaft H, Bassen C, Bär K, Szymanski CM. (2010). Characterization of a *Campylobacter jejuni* peptidoglycan-modifying enzyme, Pgp1, involved in helical-cell-shape maintenance and colonization. **J Bacteriol**. v.192, n.12, p.3043-53.

Gray JA, Scott CP, Kaur MCK. Bowman JP, Fox EM. (2021). Characterisation of Listeria monocytogenes food-associated isolates to assess environmental fitness and virulence potential. **International Journal of Food Microbiology,** v. 350, 109247,ISSN 0168-1605, https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109247.

Grimes T, Reece, R. (2011). 'Spotty liver disease'–an emerging disease in free-ranging layers in Australia. Proceedings of the Sixtieth Western **Poultry Disease Conference,** p. 53–56.

Gründler T, Quednau N, Stump C, Orian-Rousseau V, Ishikawa H, Wolburg H, Schroten H, Tenenbaum T, Schwerk C. (2013). The surface proteins InlA and InlB are interdependently required for polar basolateral invasion by Listeria monocytogenes in a human model of the blood–cerebrospinal fluid barrier, **Microbes and Infection**, v.15, n.4, p.291-301, ISSN 1286- 4579,doi.org/10.1016/j.micinf.2012.12.005.

Gruntar I, Biasizzo M, Kušar D, Pate M, Ocepek M. (2015). Campylobacter jejuni contamination of broiler carcasses: Population dynamics and genetic profiles at slaughterhouse level, **Food Microbiology.** v. 50, p.97-101.ISSN 0740-0020, https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.03.007.

Gupta S, Kumar P, Rathi B, Verma V, Dhanda RS, Devi P, Yadav M. (2021). Targeting of Uropathogenic *Escherichia coli* papG gene using CRISPR-dot nanocomplex reduced virulence of UPEC. **Scientific Reports**, v.11, n.1, 17801.

Guastalli EAL, Soares OARES, N. M. (2011). Identificação de sorogrupos de *Escherichia coli* em aves de postura comercial. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, ano IX, n. 16, jan. Disponível em: Portal de Periódicos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça.

Guedes TC, Perfil epidemiológico dos surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar causados por salmonella spp., Brasil, 2004 a 2023. 2024, p. 1-19, **Trabalho de conclusão de curso** (Especialização em vigilância laboratorial e saúde pública) – Instituto Adolf Lutz, São José do rio preto – SP, 2024. Disponível em: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1584942

Hachiya JO et al (2020). Contaminação por Salmonella spp. Durante o Processamento de Aves em Abatedouros Frigoríficos. Ars Veterinaria, v.36, n.4, p. 218-229, Jaboticabal, SP, 2020. Disponível em: http://arsveterinaria.org.br/ars/article/view/1364

Hadjilouka A, Loizou K, Apostolou T, Dougiakis L, Inglezakis A, Tsaltas D. (2020). A cell-based biosensor system for Listeria monocytogenes detection in food. **Proceedings,** n.60, 49. https://doi. org/10.3390/IECB2020-07018

Halbedel S, Wilking H, Holzer A, Kleta S, Fischer MA, Lüth S, Pietzka A, Huhulescu S, Lachmann R, Krings A, Ruppitsch W, Leclercq A, Kamphausen R, Meincke M, Wagner-Wiening C, Contzen M, Kraemer IB, Al Dahouk S, Allerberger F, Stark K, Flieger A. (2020). Large Nationwide Outbreak of Invasive Listeriosis Associated with Blood Sausage, Germany, 2018-2019. **Emerg Infect Dis**. Jul, v.26, n.7, p.1456-1464. doi: 10.3201/eid2607.200225.

Hamidi A, Irsigler H, Jaeger D, Muschaller A, Fries R. (2014). Quantification of water as a potential risk factor for cross-contamination with Salmonella, Campylobacter and Listeria in a poultry abattoir. **Br. Poult. Sci**., v.55, p.585-591.

Hankel J, Kittler S, Chuppava B, Galvez E, Strowig T, Becker A, von Köckritz-Blickwede M, Plötz M, Visscher C. (2022). Luminal and mucosa-associated caecal microbiota of chickens after experimental *Campylobacter jejuni* infection in the absence of *Campylobacter*-specific phages of group II and III. **Microb Genom**. Oct;8(10):mgen000874. doi: 10.1099/mgen.0.000874. PMID: 36190827; PMCID: PMC9676049.

Hendrixson DR, DiRita VJ. (2004). Identification of Campylobacter jejuni genes involved in commensal colonization of the chick gastrointestinal tract. **Mol Microbiol.** Apr, v.52, n.2, p.471-84. doi: 10.1111/j.1365-2958.2004.03988.x. PMID: 15066034.

Hermans D, Pasmans F, Messens W, Martel A, Immerseel FV, Rasschaert G, Haesebrouck F (2012). Poultry as a host for the zoonotic pathogen Campylobacter jejuni. Vector Borne **Zoonotic Dis**., v.12, p.89-98.

Heredia N, García S. (2018). **Animals as sources of food-borne pathogens: A review**. Anim Nutr. 2018 Sep;4(3):250-255. doi: 10.1016/j.aninu.2018.04.006. Epub 2018 May 4. PMID: 30175252; PMCID: PMC6116329.

Hirsh DC., Zee YC. Microbiologia Veterinária. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 464p.

Humphrey TJ, O'Brien S, Madsen M. (2007) Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v. 117, n. 3, p. 237-257.

Huja S, Oren Y, Trost E, Brzuszkiewicz E, Biran D, Blom J, Goesmann A, Gottschalk G, Hacker J, Ron E, Dobrindt U. (2015). Genomic Avenue to Avian Colisepticemia. Mbio, v.6, p.1-13.

Hussain A, Shaik S, Ranjan A, et al., (201) Risk of Transmission of Antimicrobial Resistant Escherichia coli from Commercial Broiler and Free-Range Retail Chicken in India. **Front. Microbiol**, v.8, 2120.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 10272-1:2006**: Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for detection and enumeration of Campylobacter spp. — Part 1: Detection method. Geneva: ISO, 2006.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 10272-1:2017**: Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection method. Geneva: ISO, 2017.

Issenhuth-Jeanjean S, Roggentin P, Mikoleit M, Guibourdenche M, de Pinna E, Nair S, Fields PI, Weill FX. (2014). Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Res Microbiol**. Sep., v.165, n.7, p.526-30. doi: 10.1016/j.resmic.2014.07.004. Epub 2014 Jul 15. PMID: 25049166.

Iovine NM. (2013). Resistance mechanisms in Campylobacter jejuni. **Virulence.** Apr v.1, n.4(3), p.230-40. doi: 10.4161/viru.23753. Epub 2013 Feb 13. PMID: 23406779; PMCID: PMC3711981.

Islam Z, van-Ess ,Ciric, L. (2012). The effect of environmental conditions on the attachment and biofilm formation of *Campylobacter jejuni*. **International Journal of Food Microbiology**, v.153,n.1-2, p.155-161.

Jamshidi A, Zeinali T. (2019). Significance and Characteristics of *Listeria monocytogenes* in Poultry Products. **Int J Food Sci**. Apr 18; 2019:7835253. doi: 10.1155/2019/7835253.

Janezic, S. et al. (2020). One Health approach to the study of antimicrobial resistance in the environment and its impact on human health. **Environmental Research**, v. 182, 109065. doi.org/10.1016/j.envres.2020.109065

Jain D, Prasad KN, Sinha S, Husain N. (2008). Differences in virulence attributes between cytolethal distending toxin positive and negative Campylobacter jejuni strains. **J. Med. Microbiol**., v.57, p.267-272.

Jarvis NA, O'Bryan CA, Dawoud TM, Park SH, Kwon YM, Crandall PG, Ricke S.C. (2016). An overview of Salmonella thermal destruction during food processing and preparation. **Food Control**, v.68, p.280–290.

Jay M. (2005). Gastroenterite de origem alimentar causada por Escherichia coli. **In:Microbiologia de Alimentos**. Ed. ArtMed. Cap.27, p.656-582.

Jennings JL, Sait LC, Perrett CA, Foster C, Williams LK, Humphrey TJ., (2011). *Campylobacter jejuni* is associated with, but not sufficient to cause vibrionic hepatitis in chickens. **Vet. Microbiolo**. v. 149, p.193-199**.** doi: 10.1016/j.vetmic.2010.11.005.

Jeon B, Wang Y, Hao H, Barton Y, Zhang Q. (2011). Contribution of CmeG to antibiotic and oxidative stress resistance in *Campylobacter jejuni.* **J. Antimicrob. Chemother**. v.66,p.79-85.

Johnson JR, Sannes MR, Croy C, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA. (2012). Antimicrobial Drug–Resistant *Escherichia coli* from Humans and Poultry Products, Minnesota and Wisconsin, 2002–2004. **Emerg Infect Dis**. 2012 May; v.18, n.5, p.785-92.

Johnson, T. J., Shank, J. M., & Johnson, J. G. (2018). *Campylobacter* in poultry. In S. C. Ricke, J. R. Donaldson, & C. A. Phillips (Eds.), **Foodborne Pathogens** . p. 145-165). Academic Press.

Jordan K, McAuliffe O. (2018). Listeria monocytogenes in Foods. **Adv Food Nutr Res**. v.86, p.181-213. doi: 10.1016/bs.afnr.2018.02.006.

Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. (2015). Global Epidemiology of Campylobacter Infection. **Clin Microbiol Rev**. Jul; v.28, n.3, p.687-720. doi: 10.1128/CMR.00006-15. PMID: 26062576; PMCID: PMC4462680.

Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. (2004). Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews Microbiology,** v. 2, n. 2, p. 123–140.

Kapperud G, Tauxe R (2018). Epidemiology of foodborne diseases: The changing landscape. In: **Public Health Surveillance**. Wiley.

Kashoma IP, Kassem II, John J, Kessy BM, Gebreyes W, Kazwala RR, Rajashekara G. Prevalence and Antimicrobial Resistance of Campylobacter Isolated from Dressed Beef Carcasses and Raw Milk in Tanzania. **Microb Drug Resist**. Jan, v.22, n.1, p.40-52. doi: 10.1089/mdr.2015.0079. Epub 2015 Jul 8. PMID: 26153978; PMCID: PMC4939440.

Klein-Jobstl D, Sofka D, Iwersen M, Drillich M, Hilbert F. (2016). Multilocus Sequence Typing and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter Jejuni* Isolated From Dairy Calves in Austria. **Front. Microbiol**. v.7, p.72. doi: 10.3389/fmicb.2016.00072.

Koga M, Gilbert M, Yuki N. (2012). *Campylobacter jejuni* lipo-oligosaccharides: a link between preceding infection and the development of Guillain-Barré syndrome. **J Neuroimmunol**. v.248, n.1-2, p.1-10.

Koga VL, Rodrigues GF, Scandorieiro S, de Souza GYM, Oba A, de Oliveira TCRM. (2015). Comparison of Antibiotic Resistance and Virulence Factors among *Escherichia coli* Isolated from Conventional and Free-Range Poultry**. BioMed Res Int.** 2015:6187

Konkel ME, Klena JD, Rivera-Amill V, Monteville MR, Biswas D, Raphael B, Mickelson J. (2004). Secretion of virulence proteins from Campylobacter jejuni is dependent on a functional flagellar export apparatus. **J Bacteriol.** Jun, v.186, n.11, p.3296-303. doi: 10.1128/JB.186.11.3296-3303.2004. PMID: 15150214; PMCID: PMC415756.

Korb A. (2014). Resistência aos antimicrobianos de Escherichia coli isoladas de frangos da região metropolitana de Curitiba e identificação de riscos à saúde humana. Curitiba.

Kuana SL, Santos LR, Rodrigues LB, Borsoi A, Moraes HLS, Salle CTP, Nascimento VP. (2008). Ocorrência de *Campylobacter* em lotes de frangos de corte e nas carcaças correspondentes. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.480-486.

Kucheny F, Oliveira ST, Casagrande FP**. (2009).** Avaliação do impacto econômico da colibacilose em frangos de corte**. Revista de Ciências Veterinárias**, v. 7, n. 1, p. 57-61.

Kuchiishi SS, Fusa TM, de Oliveira TCRM, de Souza RA, da Silva LF, Tamekuni K, de Oliveira AJ (2022). Prevalence, antimicrobial resistance, and risk factors for *Campylobacter* spp. in broilers from farm to fork in Southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, *208*, 105760. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105760

Kunert Filho H.C, Carvalho D, Grassotti TT, Soares BD, Rossato JM, Cunha AC, Brito KCT, Cavalli LS, Brito BG. (2015). Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC) - an update on the control.

Lago A, Fuentefria SR, Fuentefria DP. (2010). Enterobactérias produtoras de ESBL em passo fundo, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n. 4, p. 430-4.

Lahtinen SJ, Ahokoski H, Reinikainen JP, Gueimonde M, Nurmi J, Ouwehand AC. et al. (2008). Degradation of 16S rRNA and attributes of viability of viable but nonculturable probiotic bacteria. **Lett. Appl. Microbiol**. v.46, 693–698. doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02374.x.

LARA FBM. Genótipos e filogenia de cepas de *Escherichia coli* uropatogênicas: detecção de padrões epidemiológicos. 2017. **Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular)** – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2017. Disponível em: Repositório Institucional da UnB

LaRock DL, Chaudhary A, Miller SI. (2015). Salmonellae interactions with host processes. **Nat Rev Microbiol.** Apr, v.13, n.4, p.191-205. doi: 10.1038/nrmicro3420. Epub 2015 Mar 9.

Lecuit M, e HainT. (2025). Listeria monocytogenes**. Nature Reviews Disease Primers,** 1, 1. doi.org/10.1038/s41572-024-00574-2

Lentz SAM, da Silva M, Tondo EC. (2018). *Bacillus cereus* as the main casual agent of foodborne outbreaks in Southern Brazil: data from 11 years. **Cadernos de Saúde Pública**, v.*34*, n.6, e00057417. doi.org/10.1590/0102-311x00057417

Li L, Mendis N, Trigui H, Oliver JD, Faucher SP. (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. **Frontiers in Microbiology, v.** 5.https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2014.00258 DOI=10.3389/fmicb.2014.0025 ISSN=1664-302X

Li Y, Zhou G, Gao P, Gu Y, Wang H, Zhang S, Zhang Y, Wang Y, Jing H, He C, Zhen G, Ma H, Li Y, Zhang J, Zhang M. (2019). Gastroenteritis Outbreak Caused by *Campylobacter jejuni* - Beijing, China, August, China CDC Wkly. 2020 Jun v.5, n.2(23), p.422-425. doi: 10.46234/ccdcw2020.108. PMID: 34594671; PMCID: PMC8392901

Li, C., Zeng, H., Ding, X., Chen, Y., Liu, X., Zhou, L., Wang, X., Cheng, Y., Hu, S., Cao, Z., Liu, R., & Yin, C. (2020). Perinatal listeriosis patients treated at a maternity hospital in Beijing, China, from 2013–2018. **BMC Infectious Diseases**, v.20, n.1, p.601. http://dx.doi. org/10.1186/s12879-020-05327-6. PMid:32799811.

Li, R. et al. (2022). Genomic surveillance of multidrug-resistant Escherichia coli from poultry and humans reveals direct transmission of antimicrobial resistance. **Nature Communications,** v. 13, n. 1, p. 1-12. doi.org/10.1038/s41467-022-28750-

Liu D, Lawrence ML, Austin FW, Ainsworth AJ. (2007). A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of Listeria monocytogenes. **Journal of Microbiological Methods,** v. 71,n. 2, p. 133-140. doi.org/10.1016/j.mimet.2007.08.00

Lofstedt R. (2019). The management and communication of a food risk controversy: the Swedish Campylobacter case. **J. Risk Res**. v.22, p. 803–816. https://doi.org/10.1080/ 13669877.2019.1608287.

Luque-Sastre L, Arroyo C, Fox EM, McMahon BJ, Bai L, Li F, Fanning S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Listeria* Species. **Microbiol Spectr**. Jul; v.6, n.4:10.1128/microbiolspec.arba-0031-2017. doi: 10.1128/microbiolspec.

Machado GH, Martins MMV, Pinto VH (2024). Avaliação dos alertas de Salmonela sobre o comercio internacional brasileiro. **Revista de Economia e Agronegócio - REA** ISSN impresso: 1679-1614 ISSN online: 2526-5539 Vol. 22 | N. 1.

Mainil JG. (2013). Escherichia coli virulence factors. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 152, n. 1-2, p. 2-12.

Marler Clark, LLP. (2023). *Listeria (Listeriosis).* Recuperado 17 de julho de 2024, de https://www.marlerclark.com/

Markland AS, de Almeida GS, de Souza KP, de Faria EP. (2015). Antimicrobial susceptibility, biofilm formation and genetic profiles of *Escherichia coli* isolated from retail chicken meat. **Braz J Microbiol**. v.46, n. 2, p.399-405.

Markovich Y, Palacios-Gorba C, Gomis J, Gómez-Martín Á, Ortolá S, Quereda JJ. (2024). Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of Listeria spp. in Spain. **Vet Microbiol**. Jun, v.293:110086. doi: 10.1016/j.vetmic.2024.110086.

Man SM. (2011) The clinical importance of emerging Campylobacter species. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol.** Oct v. 25;8, n.12, p. 669-85. doi: 10.1038/nrgastro.2011.191. PMID: 22025030.

Marin C, Cerdà-Cuéllar M, González-Bodi S, Lorenzorebenaque L, Veja S. (2022). Research Note: Persistent Salmonella problems in slaughterhouses related to clones linked to poultry companies. **Poultry Science.** Aug; n.101, v.8, p.101968, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101968.

Matereke LT, Okoh AI. (2020). *Listeria monocytogenes* Virulence, Antimicrobial Resistance and Environmental Persistence: A Review. **Pathogens.** Jun v.30, n.9(7):528. doi: 10.3390/pathogens9070528.

Maury MM, Tsai YH, Charlier C, Touchon M, Chenal-Francisque V, Leclercq A, Criscuolo A, Gaultier C, Roussel S, Brisabois A, Disson O, Rocha EPC, Brisse S, Lecuit M. (2016). Uncovering Listeria monocytogenes hypervirulence by harnessing its biodiversity. **Nat Genet.** Mar, v.48, n.3, p.308-313. doi: 10.1038/ng.3501.

Maue AC, Miller WG, Siletzky RM. (2012). Population genetics of *Campylobacter jejuni* from European starlings (*Sturnus vulgaris*). **Applied and Environmental Microbiology,** v.78,n.23, p.8444-8452.

MCCrakin MA, Helke KL, Galloway AM. (2016). Effect of Antimicrobial Use in Agricultural Animals on Drug-resistant Foodborne Campylobacteriosis in Humans: A Systematic Literature Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, iss. 13.

Mead G. (2004). Campylobacter update: the challenge**. International Poultry Production,** v. 12, n. 4, p. 26-29.

Mellata M (2013). Human and avian extraintestinal pathogenic Escherichia coli: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. **Foodborne Pathogens Diseases,** v. 10, p. 916-932.

Melero B, Juntunen B, Hänninen ML, Jaime I, Rovira J. (2012). Tracing Campylobacter jejuni strains along the poultry meat production chain from farm to retail by pulsed-field gel electrophoresis, and the antimicrobial resistance of isolates, **Food Microbiology**

124-128, ISSN 0740-0020, https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.04.020.

Melo RT. Pathogenic factors and potential health risk in Campylobacter spp. isolated from chicken carcass. 2012. 134 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)** - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012. DOI https://doi.org/10.14393/ufu.di.2012.377.

Melo RT, Mendonça EP, Monteiro GP, Siqueira MC, Pereira CB, Peres PABM, Fernandez H and Rossi DA (2017) Intrinsic and Extrinsic Aspects on *Campylobacter jejuni* Biofilms. **Front. Microbiol**. v.8:1332. doi: 10.3389/fmicb.2017.01332

Melo RT, Grazziotion AL, Valadares Junior EC, Prado RR, Mendonça EP, Monteiro GP, Peres PA, Rossi DA. (2019). Evolution of Campylobacter jejuni of poultry origin in Brazil. **Microbiologia de Alimentos**, v. 82, p. 489-496. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31027810

Meloni D, Consolati SG, Mazza R, Mureddu A, Fois F, Piras F, Mazzette R. (2014). Presence and molecular characterization of the major serovars of Listeria monocytogenes in ten Sardinian fermented sausage processing plants. **Meat Sci**. Aug;v. 97, n.4, p. 443-50. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.02.012

Menão MC, Ferreira CSA, Castro AGM, Knöbl T, Ferreira AJP. (2002). Sorogrupos de Escherichia coli isolados de frangos com doença respiratória crônica. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 4, p. 15-17.

Mendes, AC et al. (2023). Prevalence and characterization of ESBL-producing Escherichia coli in retail chicken meat from different regions of Brazil. **Journal of Food Protection,** v. 86, n. 4, 100058. https://doi.org/10.1016/j.jfp.2023.100058

Mendonça, EP, Melo RT, Prado RR, Monteiro GP, Brasão SC, Timoteo MF, Rossi DA (2015). Campylobacteriosis: An emerging zoonosis, underdiagnosed and underreported by public health agencies in Brazil. **Bioscience Journal,** v. 31, n. 5, p. 1458-1474. [Accessed30 December 2025]. DOI 10.14393/BJ-v31n1a2015-27524. Available from: https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/27524.

Meunier M. Guyard-Nicodème M. Dory D. Chemaly M. (2021). Control of *Campylobacter* in Poultry Production: A Review of the Main Strategies. **Foods,** v.*10*, n.10, p.2263. https://doi.org/10.3390/foods10102263

Minafra-Rezende CS, Almeida TL, Soares ES, Sola MC, Mesquita AQ, Jardim EAGV, Oliveria JC. (2011). Presence deCampylobacterspp. Dans les carcasses et les gesiers de poulets abattus à Goiás, Brésil. **Anais... Neuvièmes Journées de La Recherche Avicole**, Tours, France. 4p.

Mitchell NM, Johnson JR, Johnston B, Curtiss III R, Mellata M. (2015). Zoonotic Potential of Escherichia coli Isolates from Retail Chicken Meat Products and Eggs **Applied Enviromental Microbiology** v.81n.3.

Moore JE, Barton MD, Blair IS, Corcoran D, Dooley JS, Fanning S, Kempf I, Lastovica AJ, Lowery CJ, Matsuda M, McDowell DA, McMahon A, Millar BC, Rao JR, Rooney PJ, Seal BS, Snelling WJ, Tolba O. (2006). The epidemiology of antibiotic resistance

in Campylobacter. Microbes Infect. Jun. v.8, n.7, p.1955-66. doi: 10.1016/j.micinf.2005.12.030. Epub 2006 Mar 31. PMID: 16716632.

Moffatt CR, Greig A, Valcanis M, Gao W, Seemann T, Howden BP. (2016). A large outbreak of *Campylobacter jejuni* infection in a university college caused by chicken liver pate, Australia, 2013. **Epidemiol. Infect**. v.144, p.2971–2978. doi: 10.1017/S0950268816001187

Mohammadpour H, Berizi E, Hosseinzadeh S. (2018). The prevalence of *Campylobacter* spp. in vegetables, fruits, and fresh produce: a systematic review and meta-analysis. **Gut Pathog** v.10, n.41. https://doi.org/10.1186/s13099-018-0269-24.

Moraes DMC, Duarte SC, Bastos TSA, Rezende CLG, Leandro NSM, Café MB, Stringhini JH, Andrade MA (2016) Detection of Salmonella spp. by conventional bacteriology and by quantitative polymerase-chain reaction in commercial egg structures. **Brazilian Journal of Poultry Science** 18:117-124.

Montgomery MP, Robertson S, Koski L, Salehi E, Stevenson LM, Silver R. (2018). Multidrug-resistant Campylobacter jejuni outbreak linked to puppy exposure- United State, 2016-2018. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.67, n.37, p.1032-1035.

Munita JM, Arias CA. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Microbiol Spectr.** Apr, v.2,10.1128/microbiolspec. VMBF-0016-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. PMID: 27227291; PMCID: PMC4888801.

Murray CJL. et al. (2019). Antimicrobial Resistance Collaborator, Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis, The Lancet, v. 399, n.10325, p.629 – 655.

Myintzaw P, Jaiswal AK, Jaiswal S. (2023). A review on campylobacteriosis associated with poultry meat consumption. **Food Rev. Int.** v.39, n.4, p. 2107–2121.

Nabil NM, Tawakol MM, Hassan HM. (2018). Assessing the impact of bacteriophages in the treatment of Salmonella in broiler chickens. **Infection Ecology & Epidemiology**,v.8,n.1 1539056. DOI: 10.1080/20008686.2018.1539056

Nachamkin I. (2007). Foodborne viral Pathogens. In **Food Microbiology,** Fundamentals and Frontiers, Campylobacter jejuni. 3rd Edition. Edited by M.P. Doyle and L.R. Beuchat. ASM Press, Washington DC. Pg. 237-248

Ndagi U, Falaki AA, Abdullahi M, Lawal MM, Soliman ME (2020). Antibiotic resistance: bioinformatics-based understanding as a functional strategy for drug design. **RSC Advances,** v.10, n 31 p. 18451–18468. **DOI:** 10.1039/D0RA01484B

Neri Das, Luigi ABI, Ciorba RDA, Del Matto I, Di Leonardo M, Giovannini, AV, Pomilio F, Gino AS, Migliorati G. (2019).EU and US control measures on Listeria monocytogenes and Salmonella spp. in certain ready-to-eat meat products: An equivalence study. Food Control, v.96, p.98-103ISSN 0956-7135, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.001.

Nguyen TK, Nguyen LT, Chau TTH, Nguyen TT, Tran BN, Taniguchi T, Hayashidani H, Ly KTL. (2021). Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from poultry and its environment in the Mekong Delta, Vietnam. Vet World. Dec;v. 14, n.12, p.3216-3223. doi: 10.14202/vetworld.2021.3216-3223.

Niederer L, Kuhnert P, Egger R, Büttner S, Hächler H, Korvzak BM. (2011). Genotypes and Antibiotic Resistances of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli Isolates from Domestic and Travel-Associated Human Cases. **Applied and Enveronmental Microbiology**, v.78, n.1, p.288-291.

Nolan LK, Vaillancourt JP, Barbieri NL, Logue CM (2020). Colibacillosis. *In*: SWAYNE, D. E. (Ed.). **Diseases of Poultry**. 14. ed. Ames: Wiley-Blackwell. p. 770-830.

Nothaft H, Bian X, Shajahan A, Miller WG, Bolick DT, Guerrant RL, Azadi P, Ng KKS, Szymanski CM. (2021). Detecting Glucose Fluctuations in the *Campylobacter jejuni* N-Glycan Structure. **ACS Chem Biol**. Nov v.19n.16(11), p.2690-2701. doi: 10.1021/acschembio.1c00498. Epub 2021 Nov 2. PMID: 34726367; PMCID: PMC9307124.

O'Bryan C, Ricke S, Marcy, J. (2022). Public Health Impact of Salmonella spp. on Raw Poultry: Current Concepts and Future Prospects in The United States**. Food Control**. 132: 108539. Disponible en: https://www.semanticscholar.org/paper/Public-health-impact-of-Salmonella-spp.-on-raw-and-O'Bryan

Ochoa IMF, Rodriguez AV. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de Salmonella sp. Review Article [online], v.47, n.1-2, p.25-42. Disponível em: http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2005/mi05-1_2e.pd

Ó Cróinín T, Backert S. (2012). Host cell invasion by *Campylobacter jejuni*: a crucial role for the bacterial flagellum. **Front Cell Infect Microbiol**. v.2,82.

Oh E, McMullen L, Jeon B. (2015). High Prevalence of Hyper-Aerotolerant Campylobacter jejuni in Retail Poultry with Potential Implication in Human Infection. **Front Microbiol**. Nov, v. 12, n.6, p.1263. doi: 10.3389/fmicb.2015.01263. PMID: 26617597; PMCID: PMC4641907.

Oh E, Jeon B, Song H, Ha S, Lee Y.(2018). Resuscitation of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni* and its subsequent virulence. **Food Control**. v.84, p.136-42.

Olanya OM, Hoshide AK, Ijabadeniyi OA, Ukuku DO, Mukhopadhyay S, Brendan AN, Ayeni O. (2019). Cost estimation of listeriosis (Listeria monocytogenes) occurrence in South Africa in 2017 and its food safety implications, **Food Control,** v.102, p.231-239. ISSN 0956-7135, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.02.007.

Oliveria JAS, Ferreira LC. (2021). Subnotificação de Doenças Transmitidas por Alimentos em Januária-MG. **Uniciencias**, v.25, n.2, p.77-79.

Oosterom J. (1994). *Campylobacter jejuni* in foods of animal origin. In: **Report on a WHO consultation on epidemiology and control of campylobacteriosis in animals and humans.** Bilthoven, WHO Publishing, p. 184.

Orsi RH, Wiedmann M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. **Applied Microbiology and Biotechnology***, v.100*, n.12 p. 5273–5287. doi.org/10.1007/s00253-016-7552-2

Pacanowski J, Lalande V, Lacombe K, Boudraa C, Lesprit P, Legrand P, Trystram D, Kassis N, Arlet G, Mainardi JL, Doucet-Populaire F, Girard PM, Meynard JL. (2008). CAMPYL Study Group. Campylobacter bacteremia: clinical features and factors associated with fatal outcome. **Clin Infect Dis.** Sep v. 15, n.47(6), p.790-6. doi: 10.1086/591530. PMID: 18699745.

Pacholewicz E, Swart A, Lipman LJA, Wagenaar JA, Havelaar AH, Duim B. (2019). The viable but non-culturable (VBNC) state in *Campylobacter*: **A review. J Appl Microbiol.** v.127, n.4, p.995-1005.

Paiva JM, Coelho IAV, Pereira RFA, Pinto PS, Andrade RG, Santo AFM. (2024). High prevalence of multidrug-resistant *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: A study in Portugal. **Food Research International***, v.176*, 113852. doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113852

Pakbin B, Brück WM, Rossen JWA. (2021). Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review. **Int J Mol Sci.** Sep v.14, n.22(18), 9922. doi: 10.3390/ijms22189922.

Paravisi M. Caracterização da frequência de resistência antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* isolados de frangos de corte. 2017. 67 f. **Dissertação (Mestrado**

em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017. Disponível em: lume.ufrgs.br.

Parry CM, Threlfall EJ. (2008). Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae. **Current Opinion in Infectious Diseases** v.21, n.5, p.531-538, October 2008. | DOI: 10.1097/QCO.0b013e32830f453a

Perdoncini G, Sierra AYM, Lima LM, Trindade MM, Gomes MJP, Santos LR, Schmidt V, Nascimento VP. (2015). Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* on broiler carcasses after chilling in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.235, p.349-352.

Pentecost M, Kumaran J, Ghosh P, Amieva MR. (2010), Listeria monocytogenes internalin B activates junctional endocytosis to accelerate intestinal invasion. **PLoS Pathog.** May v.13, n.6(5):e1000900. doi: 10.1371/journal.ppat.1000900

Pigłowski M. (2020). Food hazards on the European Union market: The data analysis of the Rapid Alert System for Food and Feed. **Food Sci Nutr**. v. 8, p.1603–1627. https://doi.org/10.1002/fsn3.1448

Pianho CR, Silva MA, Rocha GC, Pereira GC. (2015). Colibacilose em aves comerciais. In: **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**. Doenças de Aves. Belo Horizonte: FEPMVZ, n. 76, p. 55-66.

Poirel L, Madec JY, Lupo A, Schink AK, Kieffer N, Nordmann P, Schwarz S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. **Microbiol Spectr**. Jul, v.6, 10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017. doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-201

Prachantasena S, Charununtakorn P, Muangnoicharoen S, Hankla L, Techawal N, Chaveerach P, et al. (2016) Distribution and Genetic Profiles of *Campylobacter* in Commercial Broiler Production from Breeder to Slaughter in Thailand. **PLoS ONE** v.11, n.2.: e0149585. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149585

Proietti PC, Guelfi G, Bellucci S, De Luca S, Di Gregorio S, Pieramati C, Franciosini MP. (2020). Beta-lactam resistance in Campylobacter coli and Campylobacter jejuni chicken isolates and the association between blaOXA-61 gene expression and the action of β-lactamase inhibitors. **Veterinary Microbiology**, v.241,108553, ISSN 0378-1135, https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108553.

Porte L, Pérez C, Barbé M, Varela C, Vollrath V, Legarraga P. (2023). Campylobacter spp. prevalence in Santiago, Chile: a study based on molecular detection in clinical stool samples from 2014 to 2019. **Pathogens.** v.12, n.3, p.504. doi: 10.3390/pathogens12030504.

Qin X, Wang X, Shen Z. (2023). The rise of antibiotic resistance in Campylobacter. **Curr Opin Gastroenterol**. v.39, n.1, p. 9-15. 10.1097/MOG.0000000000000901.

Quinn PJ, Markey BK, Cater ME, Donnely WJ, Leonard FC. (2005). **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed.

Radoshevich L, Cossart P. (2018). Listeria monocytogenes: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. **Nat Rev Microbiol.** Jan; v.16, n.1, p.32-46. doi: 10.1038/nrmicro.2017.126.

Ramirez-Hernandez A, Carrascal-Camacho AK, Varón-García A, Brashears MM, Sanchez-Plata MX. (2021). Genotypic Characterization of Antimicrobial Resistant *Salmonella* spp. Strains from Three Poultry Processing Plants in Colombia. **Foods.** Feb v.25, n.10(3):491. doi: 10.3390/foods10030491.

Rasschaert G, Houf K, Van Hende J, De Zutter L. (2008). Contamination of carcasses with Salmonella during poultry slaughter. **Journal of Food Protection,** *71*(1), p.146–152.**DOI:** 10.4315/0362-028x-71.1.146.

Rincón DPA, Ramírez RYR, Vargas JCM. (2011). Transmisión de Salmonella enterica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. **Salud UIS**, v. 43, n. 2, p. 167-177.
Disponível em: https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/2402.

Rippa A, Bilei S, Peruzy MF, Marrocco MG, Leggeri P, Bossù T, Murru N. (2024). Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated in Food and Food-Processing Environments in Italy. **Antibiotics.** v.13, n.6,525. https://doi.org/10.3390/antibiotics13060525.

Roberts BN, Chakravarty D, Gardner JC 3rd, Ricke SC, Donaldson JR. (2020). *Listeria monocytogenes* Response to Anaerobic Environments. **Pathogens.** Mar v.12n.9(3):210. doi: 10.3390/pathogens9030210.

Rodrigues R, Gonçalves A, Pereira A, Teixeira P. (2016). Morphological and physiological changes of *Campylobacter jejuni* under cold stress. **Front Microbiol.** v.7:1279.

Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johnson TJ, Fakhr MK, Nolan LK. (2005). Characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates yields insight into the nature of extraintestinal pathogenic *E. coli*. **Journal of Applied Microbiology**, v.*99*, n.2, p. 275-289.

Rodríguez-Campos D, Rodríguez-Melcón C, Alonso-Calleja C, Capita R. (2019). Persistent *Listeria monocytogenes* Isolates from a Poultry-Processing Facility Form

more Biofilm but Do Not Have a Greater Resistance to Disinfectants Than Sporadic Strains. Pathogens. Nov v.20, n.8(4):250. doi: 10.3390/pathogens8040250

Ron, E.Z. (2006). Host apecificity of septicemic *Escherichia coli*: human and avian pathogens. **Curr. Opinion Microbiol.,** v.9, p.28-32.

Rose A, Kay E, Wren BW. (2012). The *Campylobacter jejuni* NCTC11168 capsule prevents excessive cytokine production by dendritic cells. *Med Microbiol Immunol* v.201, p.137–144. https://doi.org/10.1007/s00430-011-0214-1.

Rosenquist H, Nielsen NL, Sommer HM, Nørrung B, Christensen BB. (2003). Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic Campylobacter species in chickens. **Int J Food Microbiol**. May 25; v.83, n.1, p.87-103. doi: 10.1016/s0168-1605(02)00317-3. PMID: 12672595.

Rothrock M, Micciche A, Bodie A, Ricke S. (2019). Listeria Occurrence and Potential Control Strategies in Alternative and Conventional Poultry Processing and Retail. Frontiers in Sustainable **Food Systems**. 3. 10.3389/fsufs.2019.00033.

Rouger A, Tresse O, Zagorec M. (2017). Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics. Microorganisms, v. 5:50, 2017

Ryan MP, O'Dwyer J, Adlet CC. (2017), Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen Salmonella. **BioMed Research International**, v. 2017, Article ID 3782182, p.11 DOI: 10.1155/2017/3782182.

Sadek SAS. Shaapan RM. Barakat AMA. (2023) Campylobacteriosis in Poultry: A Review. **Journal of World's Poultry Research**, v. 13, n. 2, p. 168-179.

Sahin O, Yaeger M, Wu Z, Zhang Q. (2017). Campylobacter-Associated Diseases in Animals. **Annu Rev Anim Biosci.** Feb v. 8, n.5, p21-42. doi: 10.1146/annurev-animal-022516-022826. Epub 2016 Nov 9. PMID: 27860495.

Salehi TZ, Madani AS, Karimi V, Khazaeli FA. (2008). Molecular genetic differentiation of avian Escherichia coli by RAPD-PCR. Braz. J. Microbiol., v.39, p.494-497.

Schlech WF. (2019). Epidemiology and Clinical Manifestations of *Listeria monocytogenes* **Infection. Microbiol Spectr.** May; v.7, n.3:10.1128/microbiolspec.gpp3-0014-2018. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0014-2018.

Schuppler M, Loessner MJ. (2010). The Opportunistic Pathogen Listeria monocytogenes: Pathogenicity and Interaction with the Mucosal Immune System. **Int J Inflam.** Jul v.14; 2010:704321. doi: 10.4061/2010/704321.

Shah DH, Paul NC, Sischo WC, Crespo R, Guard J. (2017). Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated Salmonella serotypes**. Poult Sci**. Mar 1;96(3):687-702. doi: 10.3382/ps/pew342.

Samavedam S, Ganguly A, Chattopadhyay S, Basu S, Nag D, Dutta S, et al. (2021). *Campylobacter jejuni* TlyA, a cytotoxin and a virulence factor, induces pro-inflammatory responses in intestinal epithelial cells. **Gut Microbes.** v.13, n.1, p1-19.

Santos AC et al. (2024). Genomic and phenotypic characterization of atypical enteropathogenic Escherichia coli (aEPEC) strains carrying extraintestinal virulence markers. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 4, p. 12345-12355.

Scallan, E. et al. (2011). Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. **Emerg. Infect. Dis**. v.17, p.7–15.

Sibanda T, Buys EM. (2022). *Listeria monocytogenes* Pathogenesis: The Role of Stress Adaptation***. Microorganisms***, v.10, 1522. https://doi.org/10.3390/microorganisms10081522

Silva IMM, Baliza M, Santos M. (2012). Presença de Escherichia coli em fígados de frangos provenientes de matadouros avícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal,** Salvador/BA, v. 13, n. 3, p. 694-700, jul./set.

Silva RM da. (2015). Escherichia Coli em Aviários, Celulites e Fígados de Frango e suas consequências para a Avicultura. 107f. **Tese (Doutorado em Biociência Animal) -** Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.

Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. (2011). *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. **Front. Microbiol***.* v.2, p.200. 10.3389/fmicb.2011.00200

Silva DT, Tejada TS, Cunha CC, Lopes NA, Agostinetto A, Collares T, Leon PMM, Timm CD. (2014). Ocorrência de Campylobacter em carne de frango, fezes de frango e humanas e pesquisa dos genes cdt. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**., v.66, n.1, p.297-304.

Silva WC, Targino BN, Mendonça RS, Sant'Ana A, Hungaro HM. (2018). *Campylobacter*: An overview of cases, occurrence in food, contamination sources, and antimicrobial resistance in Brazil. **Food Reviews International**, v.*34*, n.4, p.364–389. doi.org/10.1080/87559129.2017.129812.

Souza FRG. et al. (2021). Principais aspectos de Listeria monocytogenes e sua importância para a saúde pública. **ARS VETERINÁRIA,** v.37, n.4, p.264–272.

Soares LSH, Casella T, Kawagoe EK, Benetti Filho V, Omori WP, Nogueira MCL, Wagner G, de Oliveira RR, Stahlhofer SR, Ferreira FA, Tondo EC, Lindner JD. (2023)

Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of Salmonella Heidelberg in the south of Brazil**. International Journal of Food Microbiology**, v.391-393, 110151, ISSN 0168-1605, https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110151

Speegle L. Miller M, Backert S, Oyarzabal O. (2009) Evaluation of a membrane filtration method for the enumeration of *Campylobacter* from poultry rinse. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 72, n. 11, p. 2404-2407.

Sheppard S, Dallas, JF, Strachan NJ, MacRae M, McCarthy ND, Wilson DJ, et al. (2009). Campylobacter genotyping to determine the source of human infection. **Clin. Infect. Dis.** v.48, p.1072–1078. doi: 10.1086/597402

Stern NJ, Georgsson F, Lowman R, Bisaillon JR, Reiersen J, Callicott KA, Geirsdóttir M, Hrolfsdóttir R, Hiett KL. (2007). Frequency and Enumeration of Campylobacter Species from Processed Broiler Carcasses by Weep and Rinse Samples, **Poultry Science,** v.86, v.2, p.394-399. ISSN 0032-5791, doi.org/10.1093/ps/86.2.394.

Strachan NJ, Forbes KJ. (2010) The growing UK epidemic of human campylobacteriosis. **Lancet,** v.376, p.665-7.

Stromberg ZR, Johnson JR, Fairbrother JM, Kilbourne J, Van Goor A, Curtiss R Rd, Mellata M. (2017). Evaluation of Escherichia coli isolates from healthy chickens to determine their potential risk to poultry and human health. **PLoS One.** Jul v.3, n.12(7):e0180599. doi: 10.1371/journal.pone.0180599.

Subramanian S, Kearns DB. (2019). Functional regulators of bacterial flagella. **Annu Rev Microbiol.** v.73, p.225–246. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115725.

Suez J, Porwollik S, Dagan A, Marzel A, Schorr YI, Desai PT, Agmon V, McClelland M, Rahav G, Gal-Mor O. (2013). Virulence gene profiling and pathogenicity

characterization of non-typhoidal Salmonella accounted for invasive disease in humans. **PLoS One**. v.8, n.(3):e58449. doi: 10.1371/journal.pone.0058449.

Szczepanska B, Andrzejewska M, Spica D, Klawe JJ. (2017). Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from children and environmental sources in urban and suburban areas. **BMC Microbiology** v.17, n.80, p.1-9.

Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, Pulcini C, Kahlmeter G, Kluytmans J, Carmeli Y, Ouellette M, Outterson K, Patel J, Cavaleri M, Cox EM, Houchens CR, Grayson ML, Hansen P, Singh N, Theuretzbacher U, Magrini N; WHO Pathogens Priority List Working Group. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis**. Lancet Infect Dis**. Mar;. v.18, n.3, p.318-327. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3.

Taha-Abdelaziz K, Sing M, Shari S, Sharma S, Kulkarni RR, Alizadeh M, Yitbarek A. Helmy YA. (2023). Intervention strategies to control campylobacter at different stages of the food chain. **Microorganisms**.v.11n.1, p.113.

Tang Y, Meinersmann RJ, Sahin O, Wu Z, Dai L, Carlson J, Plumblee Lawrence J, Genzlinger L, LeJeune JT, Zhang Q. (2017). Wide but Variable Distribution of a Hypervirulent Campylobacter jejuni Clone in Beef and Dairy Cattle in the United States. **Appl Environ Microbiol**. Dec v.1, n.83(24):e01425-17. doi: 10.1128/AEM.01425-17. PMID: 28970227; PMCID: PMC5717212.

Taboada EN, Aarde SM, Lévesque S, Lévesque C, Gill A, Fung J. (2007). Tracing the source of *Campylobacter jejuni* isolates from human gastroenteritis cases in a defined geographical region in Canada. **J Clin Microbiol**. v.45, n.11, p.3608-14.

Tariq S, Samad, A, Hamza M, Ahmer A, Muazzam A, Ahmad S, Masoud A, Abobakr A. (2022). Salmonella in Poultry; An Overview. **International Journal of Multidisciplinary Sciences and Arts,** n.1, v1, p.80-84. https://doi.org/10.47709/ijmdsa.v1i1.1706

Tindall BJ, Grimont PAD, Garrity GM, Euzéby JP. (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus Salmonella. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,** v. 55, n. 1, p. 521-524.

Todd ECE, Notermans S. (2011). Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, Listeria monocytogenes**. Food Control**, v.22, p.1484-1490,

Tondo EC, Bartz S. (2019). Salmonella spp. In: **Microbiologia de Alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. (2012). **Microbiologia**. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 964p.

Trabulsi R L, Alterthum F. (2005). **Microbiologia.** 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 718.

Travier LGuadagnini SGouin EDufour AChenal-Francisque VCossart POlivo-Marin JCGhigo JMDisson OLecuit M. (2013). ActA promotes *Listeria monocytogenes* aggregation, intestinal colonization and carriage. **PLoS Pathog.** 9:e1003131

UNIÃO EUROPEIA. (2017). **Regulamento (UE) 2017/1495 da Comissão**, de 23 de agosto de 2017. Altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 no que respeita a Campylobacter em carcaças de frangos de corte. Jornal Oficial da União Europeia, L 218, 24 ago. 2017. Disponível em: eur-lex.europa.eu

van Altena SE, Peen MA, van der Linden FH, Parmentier HK, Savelkoul HF, Tijhaar EJ (2016). Bovine natural antibodies in antibody-dependent bactericidal activity against Escherichia coli and Salmonella Typhimurium and risk of mastitis. **Vet**

Immunol Immunopathol. Mar; v.171, p.21-7. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.01.009. Epub 2016 Feb 4. PMID: 26964714.

Vandame P. (2000). Taxonomy of the Family Campylobacteraceae. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M. J. (ed.). **Campylobacter**. 2. ed. Washington, D.C.: ASM Press. p. 3-26.

van Vliet AH, Ketley JM. (2001) Pathogenesis of enteric Campylobacter infection. **Symp Ser Soc Appl Microbiol**. v.2, n 30, p.45S-56S. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01353.x. PMID: 11422560.

van Alphen LB, Wenzel CQ, Richards MR, Fodor C, Ashmus RA, Stahl M, Karlyshev AV, Wren BW, Stintzi A, Miller WG, Lowary TL, Szymanski CM. Biological roles of the O-methyl phosphoramidate capsule modification in Campylobacter jejuni. (2014). **PLoS One**. Jan v.30, n.9(1):e87051. doi: 10.1371/journal.pone.0087051. PMID: 24498018; PMCID: PMC3907429.

Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals, **Proc. Natl. Acad. Sci**. *U.S.A.* 112 (18) p.5649-5654, https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112.

Vandekerchove PD, De Herdt HL, Pasmans F. (2004) Colibacillosis in caged layer hens: characteristics of the disease and the aetiological agent, **Avian Pathology**, v.33, n.2, p.117-125, DOI: 10.1080/03079450310001642149

Van TT. Elshagmani E. Gor MC, Scott PC, Moore RJ. (2016). *Campylobacter hepaticus* sp. nov., isolated from chickens with spotty liver disease. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** v.66, p.4518–4524. doi: 10.1099/ijsem.0.001383

Varnam AH, Evans, MG. (1991). **Foodborne pathogens**: an illustrated text. New Jersey: Wiley-Interscience, p. 557.

Van Der Spiegel M, Van Der Fels-Klerx HJ, Marvin HJP. (2012). Effects of climate change on food safety hazards in the dairy production chain. **Food Research International,** v. 46, n.1, p. 201–208.

Van Der Stel AX, Van Mourik A, Wösten MMSM, Van Putten JPM. (2017). The *Campylobacter jejuni* CbrR-responsive sRNA landscape. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 332.

Vasconcelos RM, Marin VA. (2008). Listeria monocytogenes em queijo minas frescal e critérios para a avaliação de risco. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 32-45.

Vellinga A, VAN LF. (2002). The dioxin crisis as experiment to determine poultry-related Campylobacter enteritis. **Emerging Infectious Disease journal**, v.8, p.9-22.

Vetchapitak T, Misawa N. (2019). Current Status of *Campylobacter* Food Poisoning in Japan. **Food Saf (Tokyo**). Aug v.10, n.7(3), p. 61-73. doi: 10.14252 /foodsafetyfscj.D-19-00001. PMID: 31998589; PMCID: PMC6977775.

Vieira M. A. M. (2009). Ilhas de Patogenicidade. O Mundo da Saúde. v.33, n.4, p.406-414.

Vizzini P, Manzano M, Farre C, Meylheuc T, Chaix C, Ramarao N, Vidic J. (2021).Highly sensitive detection of Campylobacter spp. In chicken meat using a silica nanoparticle enhanced dot blot DNA biosensor, **Biosensors and Bioelectronics**, v.171, 112689,ISSN 0956-5663, https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112689.

Young KT, Davis LM, Dirita VJ. (2007). *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 9, p. 665-679.

Wang L, Zhang X, Wang Y, Zhang M, Wu C, Zhang J. (2020). Research progress on the quorum sensing system of *Campylobacter jejuni*. **Future Microbiol.** v.15, p.1157-1166.

Wadhams GH, Armitage JP (2004). Making sense of it all: bacterial chemotaxis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.*5*, n.12, p. 1024-1037.

Willians LK, Jorgensen F, Grogono-Thomas R, Humprey TJ. (2009). Enrichment culture for the isolation of Campylobacter spp.: effects of incubation conditions and the inclusion of blood in selective broths. **International Journal of Food Microbiology**, v. 130, n. 2, 31, p. 131-134.

Walencka E, de Oliveira TCRM, Ferreira AJP. (2018). Prevalence and characterization of thermophilic *Campylobacter* spp. in poultry carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology,** v.49, n.3, p.574-580.

Wang M, Qazi IH, Wang L, Zhou G, Han H. (2020). *Salmonella* Virulence and Immune Escape. **Microorganisms.** Mar v.13, n.8(3), p.407. doi: 10.3390/microorganisms8030407

Wang Y, Zhang, Li, J, Wu, Wang Y. (2020). A review of the mechanism of antibiotic resistance in *Escherichia coli*: An overview of the resistance mechanisms of *E. coli*. **BioMed Research International**, 2925397.

Wassenaar TM, Newell DG. (2000). Genotyping of Campylobacter spp. **Appl. Environ. Microbiol**. v.66, p.1–9.

Wen L, Chang C. (2015). Hydrogen peroxide-mediated *Campylobacter jejuni* invasion of host cells. **Front Microbiol**. v.6,1018.

Wieczorek K, Osek J. (2013). Antimicrobial resistance mechanisms among Campylobacter. **Biomed Res Int**. 2013; 2013:340605. doi: 10.1155/2013/340605. Epub 2013 Jun 24. PMID: 23865047; PMCID: PMC3707206.

Wimalarathna HM, Richardso JF, Lawson AJ, Elson R, Meldrum R, Little CL. (2013) Widespread acquisition of antimicrobial resistance among Campylobacter isolates from UK retail poultry and evidence for clonal expansion of resistant lineages', **BMC Microbiology**, v.13, 160. https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-160.

WHO - World Health Organization (2024). (WHO). Salmonella (non-typhoidal). WHO, 20 Disponível em: https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/salmonella-(non-typhoidal). Acesso em: 11 set. 2024.

WHO - World Health Organization. (2018). Salmonella (non-typhoidal). **Fact sheet. 2018.** Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)>

WHO World Health Organization (2017) Pathogens Priority List Working Group. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **Lancet Infect Dis**. Mar v.18, n.3, p.318-327. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3. Epub 2017 Dec 21. PMID: 29276051.

WHO - World Health Organization. (2020). **Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: early implementation 2020**. Geneva: World Health Organization, 2020. Disponível em: www.who.in

WHO - World Health Organization. (2021). *WHO priority pathogens list for R&D of new antibiotics*. https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed

WHO - World Health Organization (2015) Estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. World Health Organization (WHO), 2015. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acessed: 15 set. 2024.

WHO - World Health Organization. (2025) **WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: second edition (2025/2026)**. Geneva: WHO, 2025. Disponível em: www.who.int.

World Organisation for Animal Health (OMSA). (2024). OMSA **Annual Report on Antimicrobial Agents Intended for Use in Animals**. 8th ed. Paris: OMSA; 2024.

Wiedmann M (2002) Subtyping of bacterial foodborne pathogens. **Nutr Rev.** v.60, p.201-208.

Wing EJ. Gregory SH. (2002). *Listeria monocytogenes*: clinical and experimental update. **The Journal of Infectious Diseases***, 185*(Supplement_1), S18–S2

Würfel SFR, da Silva WP, de Oliveira MG, Kleinubing NR, Lopes GV, Gandra EA, Dellagostin AO. (2019). Genetic diversity of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from poultry meat products sold on the retail market in Southern Brazil, **Poultry Science**, v.98, n.2, p.932-939.ISSN 0032-5791,https://doi.org/10.3382/ps/pey365.

Zanetti N, De Carli S, Souza MN, Lehmann FKM, Kipper D, Dias KKR, Fonseca ASK, Lunge VR, Ikuta N. (2019). Molecular Detection and Characterization of *Salmonella* Gallinarum From Poultry Farms in Brazil. **Journal of Applied Poultry Research,** n.28,v4. 1335–1341. DOI: **10.3382/japr/pfz051**

Zeng H, DE Reu K, Gabriël S, Mattheus W, DE Zutter L, Rassachaert G. (2021). Salmonella prevalence and persistence in industrialized poultry slaughterhouses. **Poultry Science**. v. 100, p. 100-991. doi: 10.1016/j.psj.2021.01.014. Epub 2021 Jan 16.

Zilbauer M, Dorrell N, Wren BW, Bajaj-Elliott M. (2008) Campylobacter jejuni-mediated disease pathogenesis: an update. **Trans R Soc Trop Med Hyg**. Feb. v.102 n.2, p.123-9. doi: 10.1016/j.trstmh.2007.09.019. Epub Nov 19. PMID: 18023831.

Zhao F, Bi X, Hao Y, Liao, X. (2013). Induction of viable but nonculturable *Escherichia coli* O157:H7 by high pressure CO_2 and its characteristics. **PLoS ONE.** 8:e62388. doi: 10.1371/journal.pone.0062388

Zhnag Q. (2008). Campylobacteriosis. In: SAIF, Y. M. (Ed.). **Diseases of poultry**. 12.ed. Iowa: Brackwell Publishing, p.675-690.

ZormanT. Mozina SS. (2002). Classic and molecular identification of thermotolerant campylobacters from poultry meat. **Food Technology and Biotechnol**ogy, Zagreb, v. 40, n. 3, p. 177-184.

CAPÍTULO 2 - Comparação entre a microbiologia convencional e metodologias de PCR em Tempo Real para a Detecção de *Campylobacter* spp. em amostras de abatedouros de frangos de corte

Resumo

Campylobacter spp., notavelmente *C. jejuni* e *C. coli*, é reconhecido globalmente como o agente bacteriano mais comum de gastroenterite humana, com a carne de frango sendo a principal fonte de infecção. Aves de corte atuam como reservatórios assintomáticos, e a contaminação se propaga ao longo da cadeia de abate. A detecção e quantificação deste patógeno são desafiadoras devido à baixa contagem celular, microbiota competitiva e por ser um microrganismo fastidioso. O presente estudo teve como objetivo adaptar um protocolo de isolamento de *Campylobacter* spp. com base nas diretrizes da norma ISO 10272-1:2017, comparando-o também com a detecção por qPCR antes e depois do enriquecimento seletivo de amostras provenientes de abatedouros de frangos de corte. A metodologia envolveu um estudo de campo realizado em três abatedouros certificados pelo SISP no estado de São Paulo, totalizando 270 amostras coletadas em nove pontos críticos da linha de abate. Os resultados demonstraram a eficácia de um protocolo otimizado, no qual o enriquecimento em caldo Bolton suplementado a 37°C maximizou a recuperação do patógeno. A qPCR mostrou superioridade em sensibilidade e rapidez, com uma taxa de positividade significativamente maior que a do isolamento microbiológico, havendo baixa concordância entre os métodos. A análise comparativa confirmou o enriquecimento como etapa crucial para amplificar baixas cargas bacterianas. Embora a qPCR direta (sem enriquecimento) tem a desvantagem de detectar DNA de bactérias mortas, portanto incapaz de causar infecção, não sendo um risco potencial para a saúde pública, ela pode ser alternativa viável para decisões rápidas na indústria. Conclui-se que a integração de um protocolo de enriquecimento otimizado com a detecção por qPCR constitui uma abordagem robusta e eficiente para a vigilância de *Campylobacter* spp. na cadeia avícola, fornecendo subsídios para aprimorar o controle e reduzir o risco para a saúde pública.

Palavras-chave: Campilobacteriose, incubação, células viáveis, cultura bacteriológica

1. Introdução

Campylobacter é reconhecida globalmente como um agente causador significativo da gastroenterite transmitida por alimentos em humanos, considerado um microrganismo emergente de importância para a saúde pública (Humphrey et al., 2007; Kaakoush *et al*., 2015). Entre as espécies de *Campylobacter*, *C. jejuni* e *C. coli* são os patógenos humanos mais frequentes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera a campilobacteriose como a causa bacteriana mais comum de gastroenterite no mundo. Dentre essas espécies, *Campylobacter jejuni* destaca-se como a mais patogênica e a principal associada a surtos de doença transmitida por alimentos. Estima-se que de 50% a 70% das infecções humanas por *Campylobacter* tenham origem no consumo de carne de frango, sendo o manuseio inadequado de frango cru e a ingestão de carne mal cozida identificados como as principais vias de transmissão (CDC, 2019; EFSA, 2024).

Frangos de corte, servem como reservatórios para *Campylobacter,* frequentemente carregando o patógeno de forma assintomática (Abu-Madi et al, 2016; EFSA 2018), sendo a principal fonte da campilobacteriose humana (Scallan et al., 2015; Kim et al., 2020). O patógeno pode ser detectado em todas as etapas da produção avícola (Melero et al., 2012; Skarp et al., 2016). Após a introdução no processo de abate, a *Campylobacter* pode se propagar pela cadeia de produção, contaminando o produto final (Melero et al., 2012).

Durante o abate de aves, a etapa de evisceração é crítica para a disseminação de patógenos, uma vez que o risco de ruptura intestinal pode resultar na contaminação sequencial das carcaças (Berrang et al., 2001; Rosenquist et al., 2006; Silva et al., 2020). Além dessa etapa, o processo de desemplumamento também representa um alto risco, pois os sítios de adsorção de *Campylobacter jejuni* estão localizados na superfície da pele e nos folículos, favorecendo a fixação da bactéria durante a passagem das aves pelos equipamentos (Berndtson et al., 1992; Jang et al., 2007).

Uma vez estabelecida nas carcaças ou equipamentos, *Campylobacter* spp. está sujeita a uma variedade de estresses ao longo do processamento, incluindo variações de temperatura (altas e baixas) e estresse oxidativo, condições que poderiam comprometer sua sobrevivência. No entanto, sabe-se que microrganismos do gênero *Campylobacter* são bem adaptados para persistir em ambientes de

processamento de alimentos (Yahara et al., 2017). Essa adaptação para sobreviver ao longo da cadeia alimentar é facilitada pela alta diversidade genotípica (Hansson et al., 2018) e por inúmeros fatores de virulência (Cantero et al., 2018).

A detecção das espécies *Campylobacter* é desafiadora e representa um fator limitante no controle de sua disseminação. A dificuldade é atribuída à microbiota competitiva em amostras, baixa contagem celular bacteriana e requisitos de isolamento (Silva et al., 2014), que exigem condições microbiológicas e temperatura específica de armazenamento (Stern et al., 2021; Silva et al., 2007), além das necessidades de crescimento desse microrganismo na cultura (Horvat et al., 2022) Para detectar e quantificar *Campylobacter* spp. em amostras de abatedouro de aves, são empregados vários métodos laboratoriais, os convencionais, como cultura microbiológica (ISO 10272-1, 2017) e ensaio qPCR (Krali e Ricchi, 2017), são os mais amplamente utilizados.

A metodologia ISO é amplamente utilizada para o isolamento e identificação do *Campylobacter*, envolvendo etapas como enriquecimento seletivo e cultivo em meios específicos. No entanto, apresenta algumas limitações, incluindo tempo prolongado de análise, necessidade de condições de crescimento em microaerofilia e potencial redução da sensibilidade quando as amostras contêm baixo número de células viáveis. Em contraste, a q-PCR pode ser uma alternativa eficiente, permitindo uma detecção mais rápida, sensível e prática, além de possibilitar quantificação precisa de patógenos em amostras complexas que podem conter substâncias inibitórias, como ambientes de abatedouros (Hoofar e Cook, 2002). Uma limitação da q-PCR é que a presença de DNA nem sempre indica patógenos viáveis. No entanto, ao comparar amostras antes e depois do enriquecimento do caldo, torna-se possível inferir se ocorreu multiplicação bacteriana. No presente estudo, nosso objetivo O presente estudo teve como objetivo adaptar um protocolo de isolamento de *Campylobacter* spp. com base nas diretrizes da norma ISO 10272-1:2017, comparando-o também com a detecção por qPCR antes e depois do enriquecimento seletivo de amostras provenientes de abatedouros de frangos de corte.

2. Materiais e métodos

A cepa utilizada para contaminação artificial das amostras foi *Campylobacter jejuni* IAL 1330, proveniente do Instituto Adolfo Lutz, SP. A cepa foi armazenada em ultrafreezer a -80ºC. Para as avaliações, a cepa foi reativada em caldo Bolton (CM 0983, Oxoid). Após cultivo em microaerofilia em agar CCDA (Carvão Cefoperazona Desoxicolato Agar, CM0739 Oxoid) adicionado de suplemento específico (SR155 Oxoid), foi realizada a contagem bacteriana por diluições decimais seriadas. Os inóculos foram calculados a partir dos resultados das contagens, utilizando-se duas concentrações, 5,0 UFC e 5,0 x 10 UFC, para contaminação artificial das amostras em cada protocolo.

2.1 Amostras para avaliação de desempenho

As amostras avaliadas foram carcaças de frango e suabe de superfície de abatedouro. As amostras foram testadas em triplicata, sendo três carcaças e três suabes para cada concentração de inóculo por protocolo. Para cada amostra, foram preparadas separadamente 2 porções iguais, sendo uma contaminada artificialmente e outra analisada sem inoculação bacteriana, para garantir que não havia contaminação prévia.

2.2 Procedimentos bacteriológicos para avaliação de desempenho

Os procedimentos avaliados foram modificados a partir da ISO 10272-1:2017, utilizando-se os mesmos meios de cultura recomendados para procedimento A – caldo Bolton (CM 0983, Oxoid) com suplemento específico (SR0183 Oxoid) e procedimento B – caldo Preston com suplemento seletivo, mCCDA agar (Carvão Cefoperazona Desoxicolato Agar, CM0739 Oxoid) adicionado de suplemento específico (SR155 Oxoid). Todas as etapas de incubação foram sob microaerofilia (Microaerobac Probac, Brasil).

Os protocolos estão descritos na Tabela 1, sendo que as adaptações testadas constituíram-se de:

- Enxague prévio de carcaças em água peptonada tamponada 1% adicionada de extrato de leveduras 1%

- Suabes de superfície colhidos em 20 mL de salina 0,85%, friccionados manualmente por cerca de dois minutos, e posteriormente a solução foi inoculada em caldo de enriquecimento, mantendo a proporção de 1:10
- Caldos de enriquecimento adicionados de 5% de sangue desfibrinado de carneiro
- Alterações em temperatura e tempo de incubação
- Utilização de filtração por membrana (Millipore 0,65 µm) ao plaqueamento: deposição da membrana sobre o ágar e aplicação de 300µL do caldo de enriquecimento incubado sobre ela. Após absorção do caldo pelo ágar, a membrana era retirada assepticamente e prosseguia-se para incubação da placa.

Tabela 1. Protocolos de isolamento de *Campylobacter* jejuni IAL 1330, baseados na ISO 10272-1:2017 Procedimentos A e B, em matrizes contaminadas artificialmente

Protocolo	ISO 10272-1:2017	Enriquecimento	Plaqueamento	UFC
1	A	Bolton 90 mL 37°C/4 a 6h e 41,5°C/44h	agar mCCD 44°C/44 a 48h	5,0 5,0x10
2	B	Preston 90 mL 41,5°C/24h	agar mCCD 44°C/44 a 48h	5,0 5,0x10
3	A modificado	Bolton 30 mL com sangue 5% 37°C/4 a 6h e 41,5°C/44h	agar mCCD Filtração 44°C/44 a 48h	5,0 5,0x10
4	A modificado	Bolton 30 mL com sangue 5% 37°C/44h	agar mCCD Filtração 44°C/44 a 48h	5,0 5,0x10
5	B modificado	Preston 10 mL com sangue 5% 41,5°C/24h	agar mCCD Filtração 44°C/44 a 48h	5,0 5,0x10
6	B modificado	Preston 10 mL com sangue 5% 37ºC/24 h	agar mCCD Filtração 44°C/44 a 48h	5,0 5,0x10

2.3 Amostras para pesquisa de *Campylobacter* spp

2.3.1Coleta de Amostras

Este estudo foi realizado entre dezembro de 2023 e maio de 2024 em três abatedouros de frangos de corte certificados pelo SISP (Sistema de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Estado de São Paulo*),* de pequena a média capacidade, nas regiões Nordeste/Noroeste do Estado de São Paulo. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê Institucional de Cuidado e Uso de Animais (IACUC/CEUA) da UNESP.

Em cada abatedouro foram realizadas cinco amostragens com intervalos semanais, sendo avaliados dois lotes de frangos por semana. As amostras foram coletadas em nove pontos ao longo da linha de abate, totalizando 90 amostras por abatedouro, resultando em 270 amostras no total. As amostragens incluíram: suabes cloacais de aves e suabes caixas de transporte na plataforma de recepção, suabes de aves após escaldamento, suabes ambientais das depenadeiras e da área de evisceração, amostras de água de tanques de pré-resfriamento e resfriamento, suabes de carcaças durante o gotejamento e carcaças antes da embalagem. Os suabes cloacais foram coletados usando hastes com algodão secas e esterilizadas. Os suabes de superfície consistiam em pares de gaze esterilizados umedecidos em 20mL salina 0,85%. As amostras foram colocadas em sacos esterilizados e transportadas sob refrigeração para o laboratório do Instituto Biológico em Descalvado, São Paulo. O laboratório estava localizado aproximadamente a 103 km, 94 km e 180 km dos matadouros A, B e C, respectivamente. Todas as amostras foram processadas no mesmo dia da coleta.

2.3.2 Procedimentos bacteriológicos para pesquisa de *Campylobacter* spp

Todas as amostras foram analisadas em triplicata, houve algumas particularidades devido a matriz analisada, como descrito a seguir:

- Suabes cloacais foram adicionados a 30 mL de caldo Bolton.
- Amostras de água do pré-chiller e chiller foram analisadas em volumes 3 mL em 30 mL de caldo Bolton

- Amostras de carcaças foram enxaguadas em 300 mL de água peptonada 1% com extrato de levedura 1%, utilizando-se 30 mL para inoculação em 90 mL de caldo Bolton.

2.3.3 Amostras para detecção molecular

Foram coletadas alíquotas de 2 mL de cada amostra em dois momentos distintos: antes da inoculação no caldo Bolton (pré-incubação) e após o período de incubação (pós-incubação). As amostras foram armazenadas em microtubos estéreis (grau PCR, livres de DNase, RNase e pirogênios) e mantidas a -80 °C para posterior extração de DNA e análise por qPCR. A escolha dessa temperatura de armazenamento baseou-se em sua eficácia na preservação da integridade das amostras, conforme demonstrado por Forsberg et al. (2022)

As colônias típicas suspeitas de *Campylobacter* foram avaliadas por coloração de Gram e testes de catalase antes da identificação convencional por PCR (Casaril, 2010).

2.3.4 Detecção por PCR multiplex em tempo real de *Campylobacter* spp

Amostras pré-incubação e pós-incubação (conforme definido anteriormente) foram analisadas por qPCR. O ácido nucleico foi extraído usando o Kit de Patógenos IndiMag (Indical Bioscience) com o sistema Indimag48 (Indical Bioscience), seguindo o protocolo do fabricante.

A detecção era realizada usando o kit de PCR em tempo real multiplex Kylt®. Este ensaio triplex qualitativo tem como alvo C. *jejuni (*sonda marcada com FAM), *C. coli (*sonda marcada com Cy5) e *C. lari (*sonda rotulada como TXR). Um controle interno de amplificação (rotulado com HEX) estava incluído em todas as reações. O ensaio foi realizado conforme as instruções do fabricante.

2.4 Análise estatística

Foi realizada análise descritiva para avaliar o melhor protocolo a ser utilizado. O teste de Fisher foi utilizado para comparar as positividades entre PCR e microbiologia convencional nos diferentes frigoríficos. Tabela de contingencia foi construída com análise do teste de Fisher seguida pelo binomial entre duas

proporções para avaliar se houve associação entre os resultados de PCR antes e após o processo de enriquecimento. De forma descritiva o número de amostras e suas respectivas positividades por local de coleta foram avaliados com a construção de um heat map para melhor visualização dos resultados. Foi considerado um $p<0,05$ utilizando o programa GraphPadPrism 10.02.

3. Resultados e discussão

O Protocolo 4 demonstrou desempenho superior, recuperando o microrganismo alvo de todas as amostras analisadas, conforme Tabela 1. Este resultado deve-se à otimização do isolamento, fundamentada na combinação estratégica de fatores de crescimento e seletividade.

Diferentemente do protocolo preconizado pela ISO 10272-1, que recomenda uma etapa inicial de pré-enriquecimento a 37°C de 4 a 6 horas, seguida da elevação para 41,5°C, o protocolo otimizado manteve a temperatura constante de 37°C em todo o período de incubação em caldo Bolton. Essa modificação estratégica, visou favorecer a recuperação de células injuriadas e reduzir o estresse térmico inicial, permitindo uma detecção mais sensível de *Campylobacter* spp. em matrizes avícolas, sem comprometer a seletividade necessária para inibir a microbiota competitiva.

A temperatura de incubação de 37°C é um componente crucial, visto que é reconhecida por maximizar a recuperação inicial da maioria das espécies do gênero (Hsieg et al., 2017). Além disso, a formulação do caldo Bolton, enriquecida com sangue e contendo antibióticos para suprimir a flora competitiva, demonstrou ser um fator determinante. Esta observação alinha-se com estudos anteriores, como o de Solís-Soto et al. (2021), que também reportaram um desempenho superior do caldo Bolton em comparação ao caldo Preston, fornecendo forte corroboração para a escolha metodológica adotada neste trabalho. A superioridade do caldo Bolton é ainda evidenciada por Tejada e Timm (2019), que, em avaliações para isolamento de *C. jejuni* em carne de frango, relataram que este meio de enriquecimento recuperou a bactéria em 72,2% das amostras testadas. No citado estudo, a adição de sangue desfibrinado ao caldo Bolton não apenas serviu como fonte de nutriente, mas também atuou na neutralização de componentes tóxicos do oxigênio, criando um ambiente mais rico e favorável à multiplicação bacteriana (Tejada e Timm, 2019. Os autores

concluíram que a utilização do caldo Bolton, seguida de semeadura em ágar mCCDA, foi superior na recuperação de células de *C. jejuni* em produtos avícolas experimentalmente contaminados, reforçando a validação do nosso protocolo otimizado.

Com os outros protocolos testados no presente estudo não foi observada recuperação de *Campylobacter* (Tabela 1).

Tabela 2. Resultados de recuperação de Campylobacter jejuni IAL 1330 em matrizes contaminadas artificialmente e analisadas conforme os protocolos descritos, baseados na ISO 10272-1:2017 Procedimentos A e B

Protocolo	ISO 10272-1:2017	UFC	Análise Matrizes	Resultados Positivo/ Total
1	A	5,0	9 carcaça 9 suabes	0/18
		5,0x10	9 carcaça 9 suabes	0/18
2	B	5,0	9 carcaça 9 suabes	0/18
		5,0x10	9 carcaça 9 suabes	0/18
3	A modificado	5,0	9 carcaça 9 suabes	0/18
		5,0x10	9 carcaça 9 suabes	0/18
4	A modificado	5,0	9 carcaça 9 suabes	18/18
		5,0x10	9 carcaça 9 suabes	18/18
5	B modificado	5,0	9 carcaça 9 suabes	0/18
		5,0x10	9 carcaça 9 suabes	0/18
6	B modificado	5,0	9 carcaça 9 suabes	0/18
		5,0x10	9 carcaça 9 suabes	0/18

A partir dos resultados de padronização foi utilizado o protocolo 4 que mostrou melhor resultado. Assim, nós realizamos as análises de cultivo e PCR.

A análise comparativa dos resultados demonstrou uma discrepância significativa na positividade para *Campylobacter* spp. entre os métodos de detecção nos três abatedouros. Notavelmente, a taxa de positividade obtida pela qPCR foi substancialmente superior àquela verificada pelo isolamento microbiológico (ISL) (Tabela 3). Ao analisar os estabelecimentos individualmente, o Abatedouro B destacou-se por apresentar a maior frequência de amostras positivas detectadas por qPCR (Tabela 2).

Tabela 3. Detecção de Campylobacter spp. por PCR e isolamento bacteriológico (ISL) nos três abatedouros avícolas

Slaughterhouse	Samples	PCR-Positive (n/%)	ISL Positivo (n/%)	P value*
A	90	42 (46.7%)	4 (3.6%)	<0.0001
B	90	71 (78.9%)	1 (1.1%)	<0.0001
C	90	51 (56.7%)	3 (3.3%)	<0.0001
Total	270	164 (60.7%)	8 (2.9%)	<0.0001

*Fisher's exact test

A detecção por PCR em tempo real, tanto antes quanto depois da incubação, mostrou taxas de positividade significativamente maiores em comparação com o isolamento bacteriológico convencional (Tabela 3), reforçando as limitações deste último método para monitoramento microbiológico em ambientes complexos, como plantas de processamento avícola (Chaiswwong et al., 2012; Reichelt et al., 2022). A evidência de maior número de amostras que passaram de negativas para positivas (pré e pós incubação), sugerem que a incubação influenciou o resultado da detecção molecular (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados das comparações dos métodos de detecção

Detection Method	Positive Results	%
Pre-incubation PCR	117[a]	43.3%
Post-incubation PCR	135[a]	50.0%
Isolamento (ISL)	8[b]	2.96%
P value*	<0.0001	

*Chi-square with Bonferroni correction.
Obs: The Bonferroni correction was used to adjust for multiple comparisons (Emerson, 2020)

Tabela 5. Associação entre o número de amostras positivas e negativas para PCR nas análises pré e pós incubação

	Pós +	**Pós -**
Pré +	89	27
Pré -	49	105

P<0,0001

Em número total de amostras é possível observar uma maior positividade da PCR nas amostras de gaiola, cloaca, depenadeiras e evisceração tanto para pre como pós incubação (Figura 1). Também é possível observar a maior positividade da PCR no abatedouro B (Figura 1). O aumento de resultados positivos na pós incubação em relação a pré-incubação ocorreu nas amostras de cloaca, tanque de resfriamento, fígado suabe de carcaça e carcaça (Tabela 5). No entanto, em amostras de caixa de transporte e depenadeiras o número de amostras positivas foi maior na pré que na pós incubação (Tabela 5). Foi possível observar que no geral a maior positividade era no ambiente de chegada e após a evisceração essa positividade foi reduzida (Tabela 5). No entanto, ainda observamos altas positividades no produto final (Tabela 5).

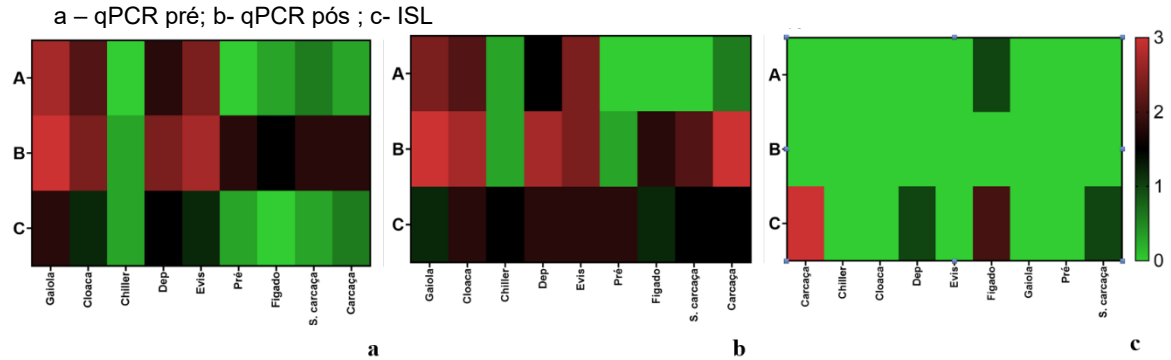


Figura 1. *Heat map* mostrando os resultados positivos pela PCR e microbiologia convencional por abatedouro e por tipo de amostra.

Tabela 6. Determinações positivas de Campylobacter spp por detecção molecular (qPCR) antes (pré) e após (pós) incubação em caldo de enriquecimento, nos locais amostrados nos três abatedouros avícolas

Categoria	Local	Método		
		PCR Pré	PCR Pós	ISL
Chegada	Caixas de transporte	25	23	03
	Cloaca	20	21	01
Ambiente	Depenadeiras	19	18	00
	Evisceração	21	21	00
	Tanque pré resfriamento	06	06	00
	Tanque resfriamento	02	08	00
Produto final	Fígado	05	09	02
	Suabe de carcaça	10	12	00
	Carcaça	09	17	02
Total		117	135	08

O aumento nas cópias de DNA indicado como valores reduzidos de Ct para *Campylobacter* spp. em amostras pós-incubação pode refletir a amplificação de cargas bacterianas inicialmente baixas e indetectáveis em análise molecular direta, mas tornou-se detectável após o enriquecimento. Alternativamente, pode sugerir a presença de células VBNC (Viáveis, mas Não Cultiváveis) que recuperaram atividade metabólica durante a incubação, tornando-se assim detectáveis (Lewis, 2001; Jang et al., 2007; Xu et al., 2008; Nachamkin et al., 2008; Isohanni et al., 2013). Até mesmo a PCR convencional foi demostrada como muito sensível, capaz de recuperar *Campylobacter* em pele de frango contaminada com 10 UFC (Solís-Soto et al., (2021).

Embora a qPCR detecte efetivamente *o Campylobacter* em amostras de galinhas (Sails et al., 2003; Debretsion et al., 2007), protocolos existentes dependem universalmente do pré-enriquecimento ou isolamento (Borges et al., 2019; Souza et al., 2019; Borges et al., 2020) adicionando tempo e complexidade ao processo. A detecção direta sem enriquecimento é pouco documentada, já que a maioria dos estudos utiliza enriquecimento de caldo para amplificar as cargas bacterianas antes

da qPCR. Boer et al. (2015) detectaram *Campylobacter* spp. por PCR em 60% das amostras provenientes de fezes de caixa de transporte e suabes cloacais após enriquecimento. Embora a literatura aponte que a etapa de enriquecimento seletivo aumenta a sensibilidade dos testes de detecção, alguns autores alertam que o tempo adicional exigido pode comprometer a viabilidade prática das rotinas de diagnóstico.

Os resultados demonstram que tanto qPCR pré incubação como pós incubação, são ferramentas valiosas para a vigilância de *Campylobacter* na indústria avícola. O protocolo pré- incubação destaca-se pela rapidez e sensibilidade, detectando cargas baixas, 500 UFC quantidade o suficiente para desencadear a infeção em seres humanos (Janssen et al., 2008). Por outro lado, a manutenção da etapa de incubação, embora demande mais tempo, complementa o diagnóstico ao confirmar a presença de células viáveis e metabolicamente ativas, uma vez que o aumento da positividade após a incubação evidencia a multiplicação bacteriana (Lanzl et al., 2022; Rodgers et al., 2017).

Os protocolos estudados permitem equilibrar as necessidades de diagnóstico rápido e preciso, conforme as demandas da cadeia avícola. O uso estratégico dessas metodologias fornece subsídios essenciais para o controle microbiológico rigoroso, reduzindo efetivamente os riscos para a saúde pública.

Em contraste com os achados de Borges et al. (2020), que observaram menor positividade para *Campylobacter* spp. via qPCR frente ao isolamento microbiológico em carcaças de aves, o presente estudo demonstrou maior sensibilidade do método molecular. Contudo, a contaminação nas carcaças permaneceu inferior à detectada nas caixas de transporte, corroborando a tendência de redução do patógeno ao longo do abate. A aparente contradição entre os estudos pode ser explicada pela ação do cloro nos tanques de resfriamento ou pela presença de inibidores de PCR (Schrader et al., 2012).

A positividade observada no isolamento bacteriológico de amostras de fígado, em contraste com resultados negativos de qPCR usando o kit comercial, sugere a possível presença de *Campylobacter hepaticus* ou outras espécies não identificadas pelo kit comercial específico para *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari*. (Van den Brom et al., 2020; Petrovska et al., 2020). Assim, o resultado negativo da qPCR não indica necessariamente ausência de patógenos, mas sim revela uma limitação metodológica

intrínseca relacionada à cobertura molecular do alvo. Esses achados exigem a validação prévia dos sistemas de detecção para espécies menos comuns ou geneticamente divergentes.

O método de cultura bacteriológica (ISO-10272) permanece o padrão-ouro para detecção de *Campylobacter*, mas sua aplicação rotineira é limitada por diversos fatores. Além das baixas taxas de recuperação associadas à perda de viabilidade bacteriana, interferência da microbiota competitiva e incapacidade de detectar células VBNC, o método é inviável em muitos contextos práticos. Seus principais entraves incluem a necessidade de mão de obra especializada, múltiplos reagentes e um longo período de análise (Schnider et al., 2010; Maurischat et al., 2015; Nagpal et al., 2015; Ricke et al., 2019; Vizzini et al., 2021). A fraca concordância estatística ($p<0,0001$) com métodos moleculares confirma essas limitações, evidenciando a insuficiência de uma abordagem única e reforçando a necessidade de estratégias complementares para uma vigilância eficaz.

Em contraste, a qPCR multiplex representa uma alternativa tecnicamente superior, combinando alta sensibilidade, especificidade e diagnósticos rápidos, juntamente com detecção simultânea de múltiplos alvos moleculares (Boer et al., 2015; Vizzini et al., 2021) Essa eficiência operacional mostra-se particularmente valiosa para a indústria alimentícia, onde a liberação rápida dos produtos, sem comprometer a segurança microbiológica, reduz os custos logísticos e perdas relacionadas a deterioração (Albini et al., 2008; Rodgers et al., 2012; Park et al., 2014; Ricke et al., 2019).

4. Conclusão

O presente estudo demonstrou que a otimização das condições de enriquecimento, notadamente a manutenção da temperatura de 37°C e o uso do caldo Bolton suplementado com sangue, maximizou a recuperação do patógeno. No entanto os resultados da PCR direta e após enriquecimento foram superiores ao microbiológico. A PCR pós enriquecimento mostra um aumento de positividade comparada a PCR direta mostrando que há multiplicação bacteriana e a maior eficiência desse teste.

Em suma, este trabalho valida a integração de um protocolo de enriquecimento otimizado com a qPCR como uma abordagem metodológica robusta e rápida para a detecção de *Campylobacter* spp. na avicultura, fornecendo dados essenciais para aprimorar as medidas de controle e reduzir o risco de transmissão ao consumidor.

5. Referências

Abu-Madi M, Behnke JM, Sharma A, Bearden R, Al-Banna N (2016). Prevalence of virulence/stress genes in Campylobacter jejuni from chicken meat sold in Qatari retail outlets. PLoS One, 11(6), e0156938

Barbour EK, Ahmadieh D, Harakeh S, Kumosani T. (2012) Impact of antimicrobials use in chickens on emergence of drug-resistant Campylobacter organisms in humans. Int. Arab. J. Antimicrob. Agents 2(4):1.

Boer P, Rahaoui H, Leer RJ, Montijn RC, Van der Vossen JMBM (2015) Real-time PCR detection of Campylobacter spp.: a comparison to classic culturing and enrichment. Food Microbiology51:96-100

Borges KA, Cisco IC, Furian TQ, Tedesco DC, Rodrigues LB, Nascimento VP do, Santos do LR (2020) Detection and quantification of Campylobacter spp. in Brazilian poultry processing plants. The Journal of Infection Developing Countries14(1):109-

Borges KA, Martelo EB, Dos Santos LA, Furian TQ, Cisco IC, Manto L, Santos LR (2019). Detection and quantification of Salmonella spp. in poultry slaughterhouses of southern brazil. The Journal of Infection Developing Countries 13:455-60

Butzler JP (2004) Campylobacter, from obscurity to celebrity. Clin. Microbiol. Infect. 10:868- 876. https://doi.org.10.1111/j.1469-0691.2004.00983.x

Casaril KBPB (2010) Standardization of traditional PCR and Real Time for the detection of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in foods [thesis]. Londrina: Department of Food Science and Technology, Center for Agricultural Sciences, State University of Londrina.

CDC, Centers for Disease Control and Prevention. (2019). Antibiotic resistance threats in the United States. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1–113.

Chaiswwong W, Kusomoto A, Hashimoto M, Harada T, Maklon K, Kawamoto K (2012) Physiological characterization of Campylobacter jejuni under cold stresses conditions: its potential for public threat. Journal of Veterinary Medical Science, Tokyo. 74(1):43-5 https://doi.org10.1292/jvms.11-0305

Debretsion A, Habtemariam T, Wilson S, Nganwa D, Yehualaeshet T (2007) Realtime PCR assay for rapid detection and quantification of Campylobacter jejuni on chicken rinses from poultry processing plant. Molecular and cellular probes 21:177-181. 10.1016/j.mcp.2006.10.006

EFSA European Food Safety Authority, (2024) Amore G, Beloeil P- A, Garcia Fierro R, Guerra B, Rizzi V and Stoicescu A- V, 2025. Manual for reporting 2024 antimicrobial resistance data under Directive 2003/99/EC and Commission Implementing Decision (EU) 2020/1729. EFSA supporting publication 22(1):EN-9238:39 https://doi.org:10.2903/sp.efsa.2025.EN-9238

EFSA, 2018. The European Union summary report on trends and sources ozoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017

Emerson, R. W. 2020. Bonferroni correction and type I error. **Journal of Visual Impairment & Blindness,** *114*.v.1, p.77–78. https://doi.org/10.1177/0145482X2090

Hoorfar J, Cook N (2002) Critical steps in standardization of PCR. Methods Mol. Biol.216:51-64. https://doi.org:10.1385/1-59259-344-5:51

Horvat, A, Luning PA, DiGennaro C, Rommens E, van Daalen E, Koene M, Jalali MS (2022) The impacts of biosecurity measures on Campylobacter contamination in broiler houses and slaughterhouses in the Netherlands: A simulation modelling approach. Food Control. 141:109-151

Hsieh YH, Simpson S, Kerdahi K, Sulaiman IM (2018) A comparative evaluation study of growth conditions for culturing the isolates of Campylobacter spp. Curr Microbiol 75:71-78. 10.1007/s00284-017-1351-6

Humphrey T, O'Brien S, Madsen M (2007) Campylobacters as zoonotic pathogens: A food production perspective. The International Journal of Food Microbiology. 117(3):237-257. https://doi.org.10.1016/j.ijfoodmicro.2007.01.006

ISO 6887-1: 2017 International Organization for Standardization. Microbiologia da cadeia alimentar - Preparação de amostras de teste, suspensão inicial e diluições decimais para exame microbiológico Parte 1 Regras gerais para a preparação da suspensão inicial e diluições decimais.

ISO-10272-1:2017. International Organization for Standardization. ISO 10272-1:2017. Microbiology of the Food Chain — Horizontal Method for Detection and Enumeration of Campylobacter spp. — Part 1: Detection Method. International Organization for Standardization.

Isohanni P, Huehn S, Aho T, Alter T, Lyhs U (2013) Heat stress adaptation induces cross-protection against lethal acid stress conditions in Arcobacter butzleri but not in Campylobacter jejuni. Food Microbiol. 34, 431435. doi: 10.1016/.2013.02.001

Jackson DN, Davis B, Tirado SM, Duggal M, van Frankenhuyzen JK, Deaville D, Wijesinghe MA, Tessaro M, Trevors JT (2009) Survival mechanisms and culturability of Campylobacter jejuni under stress conditions. Antonie Van Leeuwenhoek. Nov;96(4):377-94. https://doi.org10.1007/s10482-009-9378-8. PMID: 19774483.

Jang KI, Kim MG, Ha SD, Kim KS, Lee KH, Chung DH, Kim CH, Kim KY (2007) Morphology and adhesion of Campylobacter jejuni to chicken skin under varying conditions. Journal of Microbiology and Biotechnology 17(2): 202-206.

Jasson V, Sampers I, Botteldoorn N, López-Gálvez F, Baert L, Denayer, S, Uyttendaele, M. (2009). ESBL producing E. coli interfering in the detection of Campylobacter spp. from chicken meat preparations in Belgium. Food Microbiology, 14th Conference, Abstracts. Presented at the 14th Conference on Food Microbiology, Liège, Belgium.

Josefsen MH, Jacobsen NR, Hoorfar J (2004). Enrichment followed by quantitative PCR both for rapid detection and as a tool for quantitative risk assessment of food-

borne thermotolerant campylobacters. Appl. Environ. Microbiol. 70:3588–3592. https://doi.org:10.1128/AEM.70.6.3588-3592.2004

Kaakoush N, Castaño-Rodríguez N, Mitchell H, Man S.M. (2015) Global Epidemiology of Campylobacter Infection. Clin. Microbiol. Rev. 28: 687–720. 10.1128/CMR.00006-15

Kim JS, Jeong NB, Kim BY, Mun S, Lim ES, Koo OK (2020) Prevalence of Campylobacter in retail raw chickens and their motility phenotypes in South Korea. J. Agri. Life Environ. Sci.32:345–352. doi 10.22698/JALES.20200028

Kralik P, Ricchi M (2017) A Basic Guide to Real Time PCR in Microbial Diagnostics: Definitions, Parameters, and Everything. Front. Microbiol. 8:108. 10.3389/fmicb.2017.00108

Lewis K (2001) Riddle of biofilm resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 45(4):999-1007 10.1128/AAC.45.4.999-1007.2001

Soli´s-Soto LY, Santos IWG, Wesley I, Heredia N. (2011). PCR Detection of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in Chicken. Journal of Food Protection, Vol. 74, No. 2, 2011, Pages 221–227 doi:10.4315/0362-028X.JFP-10-282

Maurischat S, Baumann B, Martin A, Malorny B (2015) Rapid detection and specific differentiation of Salmonella enterica subsp enterica Enteritidis, Typhimurium and its monophasic variant 4,5,12:i:- by real-time multiplex PCR. International Journal of Food Microbiology 193:8-14 10.1016/j.ijfoodmicro

Melero B, Juntunen P, Hänninen ML, Jaime I, Rovira J (2012). Tracing Campylobacter jejuni strains along the poultry meat production chain from farm to retail by pulsed-field gel electrophoresis, and the antimicrobial resistance of isolates. Food Microbiol. 32 124–128 10.1016 2012.04.020

Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ (2008) Campylobacter. Washington: ASM Press. 716.

Nagpal R, Ogata K, Tsuji H, Matsuda K, Takahashi T, Nomoto K, Suzuki Y, Kawashima K, Nagata S, Yamashiro Y (2015) Sensitive quantification of Clostridium perfringens in human feces by quantitative real-time PCR targeting alpha-toxin and enterotoxin genes. BMC Microbiology. 15(1):219-31.

Niederer L, Kuhnert P, Egger R, Büttner S, Hächler H, Korvzak BM (2011) Genotypes and Antibiotic Resistances of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli Isolates from Domestic and Travel-Associated Human Cases. Applied and Enveronmental Microbiology, 78(1):288-291.

Park SH, Aydin M, Khatiwara A, Dolan MC, Gilmore DF, Bouldin JL, Ahn S, Ricke SC (2014). Current and emerging technologies for rapid detection and characterization of Salmonella in poultry and poultry products. Food Microbiology.38:250-62 https://doi.org10.1016/j.fm.2013.10.002

Petrovska L, Tang Y, Jansen van Rensburg MJ, Cawthraw S, Nunez J, Sheppard SK, Ellis RJ, Whatmore AM, Crawshaw TR, Irvine RM (2017) Genome Reduction for Niche Association in Campylobacter Hepaticus, A Cause of Spotty Liver Disease in Poultry. Front. Cell. Infect. Microbiol. 7:354. 10.3389/fcimb.2017.00354

Reichelt B, Szott V, Epping L, Semmler T, Merle R, Roesler U, Friese A (2022) Transmission pathways of Campylobacter spp. at broiler farms and their environment in Brandenburg, Germany. Front. Microbiol. 13:982693

Ricke SC, Feye KM, Chaney WE, Shi Z, Pavlidis H, Yang Y (2019) Developments in rapid detection methods for the detection of foodborne Campylobacter in the United States. Frontiers in Microbiology 9:3280

Rodgers JD, Lawes JR, Vidal AB, Ellis-Iversen J, Ridley A, Pleydell EJ, Powell LF, Toszeghy M, Stapleton E, Clifton-Hadley A (2012) Characteristics and comparative performance of direct culture, direct PCR and enumeration methods for detection and quantification of Campylobacter spp. in broiler caeca. Veterinary Microbiology 159(3-4):390-6 10.1016/j.vetmic.2012.04.011

Rosenquist H, Sommer HM, Nielsen NL, Christensen BB (2006) The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant Campylobacter. International Journal of Food Microbiology. 108,2: 226-232. 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.12.007

Sails AD, Fox AJ, Bolton FJ, Wareing DRA, Greenway DLA (2003) A real-time PCR assay for the detection of Campylobacter jejuni in foods after enrichment culture. Appl. Environ. Microbiol.69(3):1383-1390 10.1128/AEM.69.3.1383-1390.2003

Scallan E, Hoekstra RM, Mahon BE, Jones TF, Griffin PM (2015) An assessment of the human health impact of seven leading foodborne pathogens in the United States using disability adjusted life years. Epidemiol Infect. Oct;143(13):2795-804.: 10.1017/S0950268814003185.

Scharder C, Schielke A, Ellerbroek L, Johne R (2012) PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. Journal of Applied Microbiology.113:1014-1026.

Schnider A, Overesch G, Korczak BM, Kuhnert P (2010) Comparison of real-time PCR assays for detection, quantification, and differentiation of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in broiler neck skin samples Journal of Food Protection 73(6):1057-63 10.4315/0362-028x-73.6.1057

Silva DT, Tejada TS, Cunha CC, Lopes NA, Agostinetto A, Collares T, Leon PMM, Timm CD (2014) Ocorrência de Campylobacter em carne de frango, fezes de frango e humanas e pesquisa dos genes cdt. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.66:297-304.

Silva MF, Pereira G, Carneiro C, Hemphill A, Mateus L, Lopes-da-Costa L, et al. (2020) Campylobacter portucalensis sp. nov., a new species of Campylobacter isolated from the preputial mucosa of bulls. PLoS ONE 15(1): e0227500. . pone.0227500

Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA (2007) Campylobacter, p.201-211. In: Ibid. (Eds), Manual de Método.

Silva, WC, Targino BN, Mendonça RS, Sant´Ana AS, Hungaro H (2018) Campylobacter: An overview of cases, occurrence in food, contamination sources, and antimicrobial resistance in Brazil. Food Reviews International 34: 364–389.

Skarp CPA, Hänninen ML, Rautelin HII (2016). Campylobacteriosis: The role of poultry meat. Clin. Microbiol. Infect. 22, 103–109. : 10.1016/ j.cmi.2015.11.019.

Solís-Soto, L. Y., Méndez-Zamora G., Santoyo-Rodríguez M., & García-Gutiérrez C. (2021). Control of Campylobacter jejuni on chicken skin by trisodium phosphate and citrus-based compounds. Food Control, 121, 107658.

Souza MN, Lehmann FKM, Carli S de, Kipper D, Fonseca ASK, Ikuta N, Lunge VR (2019) Molecular detection of Salmonella serovars Enteritidis, Heidelberg and Typhimurium directly from pre-enriched poultry samples. British Poultry Science 60(4):388-94.

Stern NJ, Cox NA, Bailey JS, Berrang ME, Musgrove MT (2001) Comparison of mucosal competitive exclusion and competitive exclusion treatment to reduce Salmonella and Campylobacter spp. colonization in broiler chickens. Poult Sci. Feb;80(2):156-60. https://doi.org10.1093/ps/80.2.156. PMID: 11233003.

TEJADA, Talita Schneid; TIMM, Cláudio Dias. Eficiência de diferentes protocolos para isolamento de campylobacter jejuni de carne de frango. Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science, Goiânia, v. 20, p. 1–7, 2019. DOI: 10.1590/1809-6891v20e-41297.

Van den Brom R, de Jong A, van Engelen E, Heuvelink A, Vellema P (2020) Zoonotic risks of pathogens from sheep and their milk borne transmission. Small Rumin. Res. 189(1):106123

Vetchapitak T, Misawa N (2019). Current status of Campylobacter food poisoning in Japan. Food Saf., D–19-00001 10.14252/ foodsafetyfscj. D-19-00001

Vizzini P, Jasmina V, Manzano M (2021) Enrichment Free qPCR for Rapid Identification and Quantification of Campylobacter jejuni, C. coli, C. lari, and C. upsaliensis in Chicken Meat Samples by a New Couple of Primers" Foods 10(10): 2341.

Xu H, Lee HY, Ahn J (2008) Cross-protective effect of acid-adapted Salmonella enteric on resistance to lethal acid and cold stress conditions. Letters in Applied Microbiology [online], Ganwon, 47(4): 290-297

CAPÍTULO 3 - Detecção de *Campylobacter* spp em Abatedouros Avícolas: Prevalência e Sequeciamento dos Genes de Virulência (cst*II* e Neu*A*)

Resumo

A campilobacteriose, zoonose de ampla distribuição global, representa um sério desafio à saúde pública, tendo a carne de frango como seu principal veículo de transmissão. Embora a infecção por *Campylobacter* spp. seja frequentemente autolimitada, a virulência de algumas estirpes reside em sua capacidade de desencadear a Síndrome de Guillain-Barré (SGB). Essa complicação neurológica grave está ligada à presença dos genes cstII e neuA, que codificam a biossíntese de lipooligossacarídeos (LOS) mimetizadores de gangliosídeos humanos. Diante do papel central da cadeia avícola na disseminação do patógeno, este estudo propôs-se determinar a frequência de *Campylobacter* spp. em abatedouros avícolas utilizando qPCR; e caracterizar, por sequenciamento, os genes de virulência cstII e neuA nos isolados. A identificação desses marcadores genéticos em amostras da cadeia produtiva é fundamental para avaliar o potencial de virulência das estirpes circulantes.

Palavras-chaves: abatedouro avícola**,** marcadores de virulência**,** sequenciamento genético

1.Introdução

A infecção por *Campylobacter* spp. é zoonose de origem alimentar, tendo distribuição mundial, com graves repercussões para saúde pública e com impacto socioeconômico significativo (EFSA, 2024), causando infecções alimentares, sendo a gastroenterite o sinal clínico mais comum (Altekruse, 1999; Zhao *et al*., 2001; Kaakoush *et al*., 2015).

Estudos epidemiológicos relatam que a carne de frango é a principal fonte de veiculação de *Campylobacter* spp. para humanos (Oh *et al*., 2015; Prachantasena *et al*., 2016). A contaminação da carne de ave, pode ocorrer ao longo de toda a cadeia alimentar, quer diretamente ou indiretamente por contaminação cruzada, constituindo um grave risco à saúde humana (Ellis-Iversen *et al*., 2009; Kim et al., 2019; Ramires et al., 2020).

Além da prevalência, a virulência das linhagens de *Campylobacter* é um fator de grande preocupação. Embora a campilobacteriose seja tipicamente autolimitada, a infecção pode, em casos raros, desencadear complicações neurológicas graves, representada por polineuropatia desmielinizante inflamatória aguda, denominada (SGB) (Hughes et al., 2005). Essa complicação está fortemente associada à presença de genes envolvidos na biossíntese de LOS que mimetizam gangliosídeos humanos, um fenômeno conhecido como mimetismo molecular (Godschalk et al., 2004; Van den Berg et al., 2014;). Os genes cstII (codificando a sialiltransferase) e neuA (envolvido na biossíntese de ácido siálico) são marcadores genéticos para o potencial de neurovirulência das cepas de *Campylobacter* (Melo et al., 2017; Neal-McKinney et al., 2018).

Tendo em vista a importância epidemiológica de *Campylobacter* spp. e o fato de a cadeia avícola ser uma das principais vias de transmissão para o homem, o presente estudo propôs investigar a prevalência de Campylobacter spp. em abatedouros avícolas por meio de qPCR e caracterizar pelo sequenciamento os genes de virulência *cstII* e *neuA*. Esta abordagem visa não apenas quantificar a exposição ao patógeno, mas, sobretudo, identificar e diferenciar linhagens circulantes, fornecendo dados cruciais para a compreensão de sua epidemiologia e potencial de virulência. Os resultados obtidos subsidiarão o desenvolvimento de estratégias de

mitigação mais direcionadas e eficazes, tanto no âmbito da indústria avícola quanto para a proteção da saúde pública.

2.Materiais e Métodos

2.1 Amostras

Trata-se de um estudo transversal, descritivo e analítico, conduzido em três abatedouros avícolas localizados no Estado de São Paulo. Foram coletadas 270 amostras, sendo 90 de cada estabelecimento, estratificadas em três categorias principais ao longo da cadeia produtiva:

Categoria I - Chegada das aves**:** coleta de suabes cloacais de frangos de corte (n=30; 10/abatedouro) e suabes das caixas de transporte (n=30; 10/abatedouro);

Categoria II - Ambiente de processamento: suabes das depenadeiras (n=30; 10/abatedouro), superfícies da evisceração (n=30; 10/abatedouro) e amostras de água dos tanques de pré-resfriamento e resfriamento (n=60; 20/abatedouro);

Categoria III - Produto final: suabes de carcaças (n=60; 20/abatedouro) e amostras de fígados (n=30; 10/abatedouro).

As amostras foram processadas, adicionando caldo de enriquecimento (1% APT caldo com 1% extrato de levedura), homogeneizadas e transferidas alíquotas de 2 ml cada para microtubos esterilizados e armazenados a -80°C no ultra-freezer até o processamento.

As amostras foram submetidas à extração de DNA e análise por qPCR para detecção de *Campylobacter* spp. As estirpes positivas foram subsequentemente submetidas ao sequenciamento dos genes de virulência **cstII** e **neuA** para avaliação do potencial de neurovirulência.

2.2 Extração de DNA e Detecção de *Campylobacter jejuni*, *C. coli* e *C. lari*

O DNA das amostras foi extraído utilizando IndiMag Pathogen Kit (Indical Bioscience), com o equipamento Indimag48 system (Indical Bioscience), seguindo o protocolo do fabricante.

A detecção foi realizada por PCR multiplex em tempo real com alvo para C. jejuni, C. coli e C. lari, utilizando o kit comercial Kylt® Campylobacter Multiplex real-time PCR (San Group Biotech, Alemanha). O ensaio foi realizado de acordo com as

instruções do fabricante e conduzidas no termociclador em tempo real, Applied Biosystem 7500 Fast Real (incluir local de fabricação), Controles positivos e negativos inclusos no kit foram utilizados em cada rodada de amplificação. Utilizamos *Campylobacter jejuni* cepa IAL-1327, como controle positivo adicional.

2.3 Detecção de genes de virulência

As amostras previamente identificadas como positivas para *Campylobacter* spp. foram submetidas à PCR para a detecção dos genes de virulência *cstII* e *neuA***.** As reações de PCR foram realizadas utilizando o kit GoTaq Green Master Mix (Promega, EUA) e oligos descritos por Amon et al., (2012) (Tabela 1), utilizando o termociclador Bio Rad PTC 200 DNA EngineCycler MJ. Sequências sintéticas foram desenhadas e utilizadas como controles positivos (Metabion, Alemanha). Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese (90 V, 90 min) em gel de agarose a 1,5%, e marcador de 100pb (Norgen, Canadá). A visualização e análise dos produtos amplificados foram realizadas através do sistema de foto-documentação Loccus Biotecnologia.

Tabela 1. *Sequências de primers com alvo nos genes de virulência*

Gene	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')
CSTII	GTTATTATTGCTGGAAATGGACCAAGTR	ACATATAGACCCCTGAGGTAATTCTTT
NEUA	GCTCGTGGTGGCTCAAAGGGR	ATTGCACCATTGCTCATATA

2.4 Sequenciamento Sanger e Análises de Bioinformática

Todas as amostras que apresentaram resultado positivo para a presença de ambos os genes de virulência (*cstII* e *neuA*) foram selecionadas para sequenciamento.

O sequenciamento foi conduzido no Serviço Laboratorial de Referência em Biologia Molecular Aplicada do Instituto Biológico (São Paulo, Brasil). Os amplicons foram sequenciados utilizando BigDye Terminator version 3.1, kit de sequenciamento Applied Biosystems, (Waltham, Massachusetts, USA) e analisando em um ABI 3500 xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA).

Os cromatogramas gerados foram visualizados e editados manualmente no *software* Chromas versão 2.6.6 (Technelysium Pty Ltd, Austrália) para verificar a

qualidade das bases e, em seguida, verificadas usando a ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLASTn) para confirmar a identidade. Posteriormente as sequências de nucleotídeos foram traduzidas em sequências de aminoácidos. A confirmação da sua fase de leitura foi realizada através da plataforma Expasy (Duvald et al., 2021) e da ferramenta BLASTp (Basic Local Alignment Search Tool) para verificar a identidade das sequências de aminoácidos.

As análises filogenéticas foram realizadas com base nas sequências de nucleotídeos e de aminoácidos, utilizando o software MEGA 7 (Kumar, 2016). Para o gene *cstII*, o alinhamento das sequências nucleotídicas incluiu sete sequências representativas do GenBank, enquanto para o gene *neuA* foram utilizadas 15 sequências de referência. As árvores filogenéticas de nucleotídeos pelo método de *Maximum Likelihood* (ML) foram construídas com o modelo Tamura de 3 parâmetros (T92), e a robustez dos nós foi avaliada com 1000 réplicas de *bootstrap*, utilizando o *software* MEGA 7. A distância entre pares foi calculada utilizando o modelo xxx, usando tambémm o MEGA 7. Para as análises com sequências de aminoácidos dos genes *cstII* e *neuA*, foi empregado o modelo LG (Le and Gascuel, 2008)**.**

3. Resultados e Discussão

3.1 Detecção de *Campylobacter jejuni, C. coli* e *C. lari*

Das 270 amostras analisadas, 163 (60,4%) apresentaram positividade para *Campylobacter* spp. A espécie *C. jejuni* foi identificada em 44,2% das amostras positivas, exibindo uma dinâmica de distribuição distinta entre as unidades avaliadas**.** No Abatedouro A, a detecção concentrou-se na categoria I "chegada das aves". Em contrapartida, nos Abatedouros B e C, a maior prevalência de *C. jejuni* ocorreu nas amostras de ambiente. Um achado de particular relevância foi a detecção mista de *C. jejuni* e *C. coli*, observada em 46% das amostras positivas. Esta co-ocorrência foi predominante nas amostras de ambiente dos Abatedouros B e C. Contudo, houve expressiva de detecção mista na categoria "chegada" no Abatedouro B. Em nenhuma amostra houve detecção de *Campylobacter lari.*

O ambiente com o maior índice de contaminação, especificamente nas depenadeiras, com 68 amostras positivas (41,7%). As categorias "chegadas" e "produtos finais" apresentaram níveis de contaminação semelhantes, com 48 (29,5%) e 47 (28,8%) amostras contaminadas, respectivamente.

Tabela 2. Detecções moleculares de Campylobacter jejuni e Campylobacter coli em três abatedouros avícolas comerciais, por agrupamento das 163 amostras positivas representativas das categorias “chegada”, “ambiente” e “produto final (PF)”

Abatedouro	N detecções NT 163	Espécie Detectada	Categorias das Amostras			% NT 163
			Chegada	Ambiente	PF	
A	42 25,8%	*C.jejuni*	15	13	05	33 (20,2%)
		C.coli	0	0	02	02 (1,2%)
		C.jejuni + *C.coli*	02	05	0	07 (4,3%)
		Nt=42 100%	17 40,5%	18 42,8%	07 16,7%	
B	71 43,5%	*C.jejuni*	05	08	07	20 (12,3%)
		C.coli	02	03	06	11 (6,8%)
		C.jejuni + *C.coli*	13	15	12	40 (24,5%)
		Nt=71 100%	20 28,2%	26 36,6%	25 35,2%	
C	50 30,7%	*C.jejuni*	07	09	03	19 (11,7%)
		C.coli	0	0	03	03 (1,8%)
		C.jejuni + *C.coli*	04	15	09	28 (17,2%)
		N=50 100%	11 22,0%	24 48,0%	15 30,0%	
Total	163 100%		48 29,5%	68 41,7%	47 28,8%	163 100%

3.2 Detecção de genes de virulência

Para a caracterização molecular dos isolados, a pesquisa de genes de virulência foi realizada em um subconjunto de 148 amostras, derivado do total de 163 positivas. A exclusão de 15 amostras foi uma consequência metodológica da quantidade insuficiente do material.

Dos 148 isolados analisados, 45 (30,4%) foram positivos para *cstII* e 56 (37,8%) para *neuA*, com uma co-ocorrência em 29 amostras (19,6%).

3.3 Sequenciamento Sanger e Análises de Bioinformática

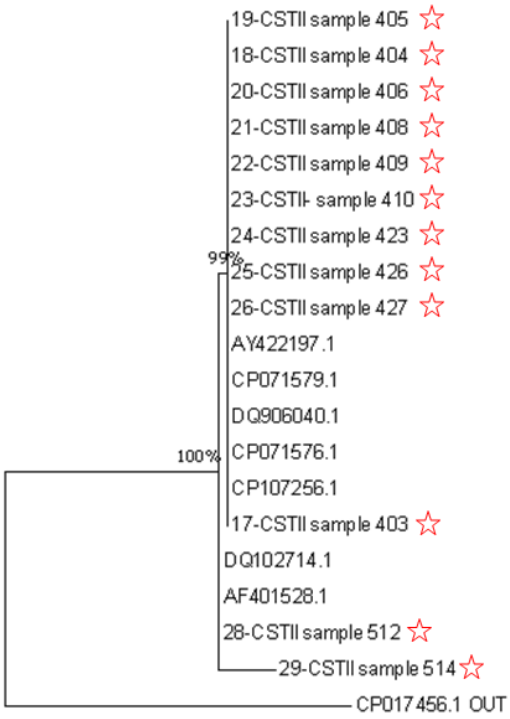


Figura 1. Árvore filogenética baseada na sequência de nucleotídeos do gene cstII, gerada por *Maximum Likelihood*, utilizando o modelo tamura 3-paramenter, baseadas em 317 posições e 20 sequências. As sequências obtidas nesse estudo estão marcadas de vermelho.

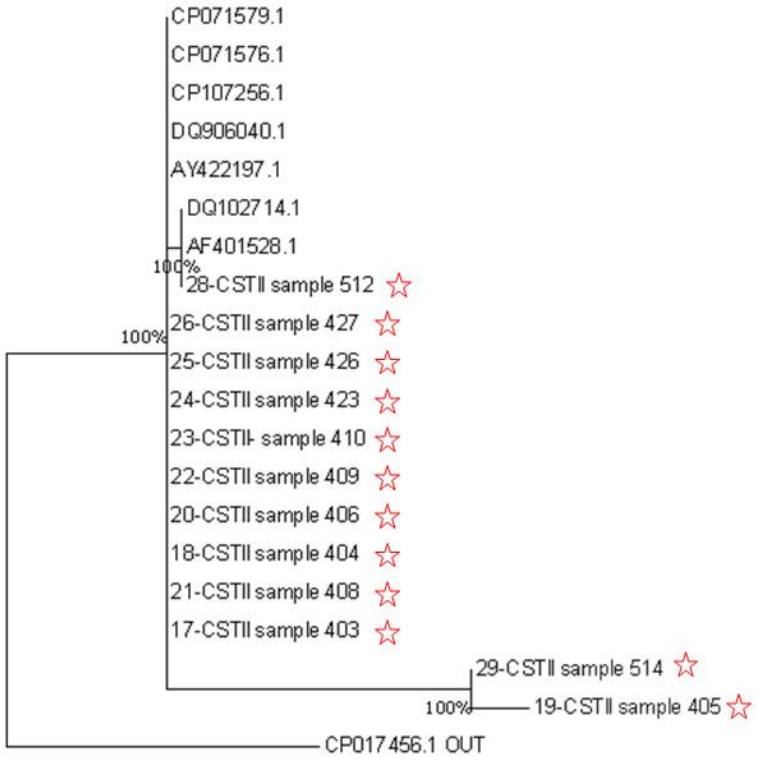


Figura 2. Árvore filogenética baseada na sequência de aminoácidos do gene cstII, gerada por *Maximum Likelihood*, utilizando o modelo Le Gascuel 2008, baseadas em 102 posições e 20 sequências. As sequências obtidas nesse estudo estão marcadas de vermelho.

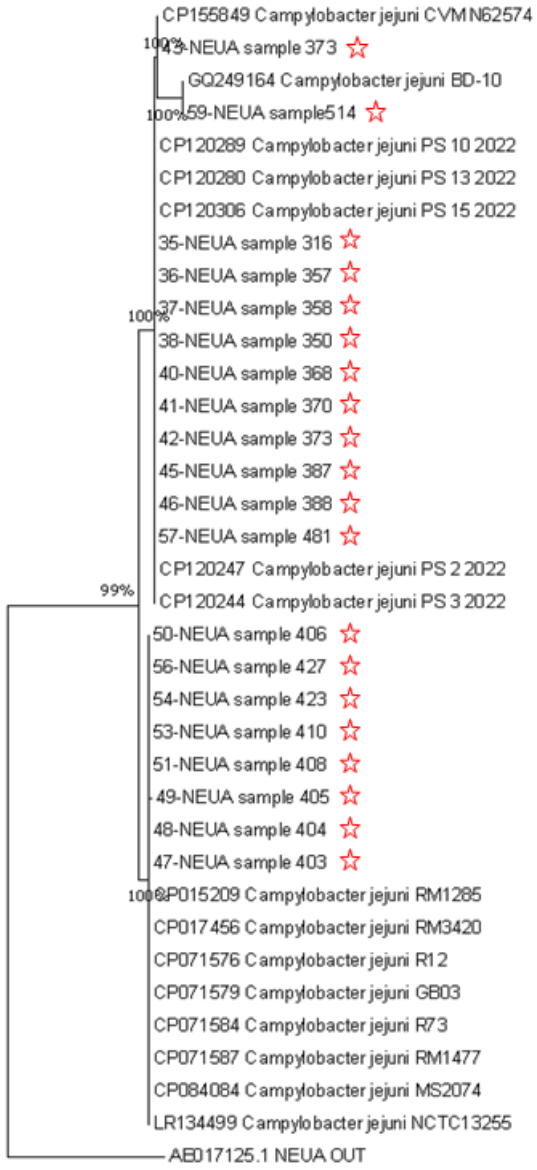


Figura 3. Árvore filogenética baseada na sequência de nucleotídeos do gene neua, gerada por *Maximum Likelihood*, utilizando o modelo tamura 3-paramenter, baseadas em 357 posições e 36 sequências. As sequências obtidas nesse estudo estão marcadas de vermelho.

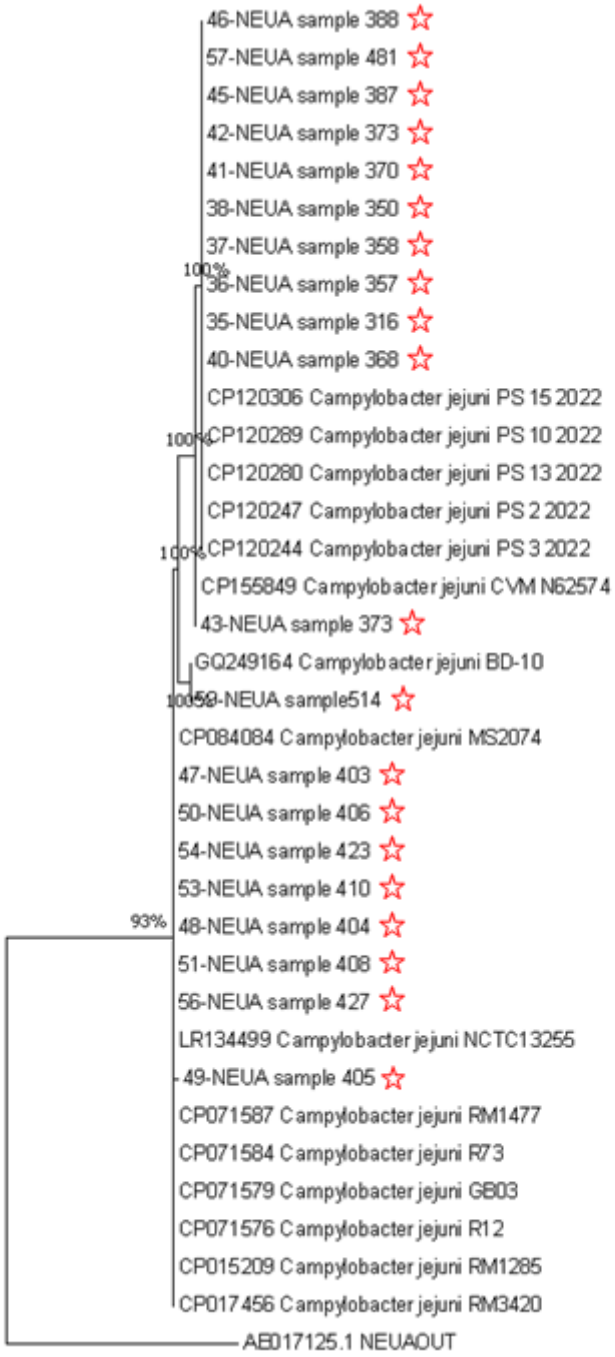


Figura 4. Árvore filogenética baseada na sequência de aminoácidos do gene neua, gerada por *Maximum Likelihood*, utilizando o modelo Le Gascuel 2008 model, baseadas em 118 posições e 36 sequências. As sequências obtidas nesse estudo estão marcadas de vermelho.

Os resultados obtidos no presente estudo, que constataram uma taxa de contaminação de 29,5% nas amostras coletadas na chegada dos lotes ao abatedouro (cloaca e caixas de transporte), corroboram e reforçam as evidências científicas

recentes que apontam para uma elevada ocorrência de *Campylobacter* spp. nos rebanhos de frangos de corte no país (Weurfel et al., 2019; Borges et al., 2020; Pozza et al., 2020; Perdoncini et al., 2022). A detecção do patógeno já no momento de entrada dos animais no abatedouro é um dado particularmente relevante, pois indica que a contaminação é de origem prévia, estabelecida ainda nas fases de produção ou durante o transporte (Hermans et al., 2011; Newell et al., 2011). Essa condição inicial representa um desafio significativo para os programas de controle na indústria, uma vez que as carcaças já chegam contaminadas, potencializando o risco de disseminação cruzada durante o processamento e comprometendo a eficácia das intervenções aplicadas *post-mortem* (Meredith et al., 2013; Huang et al., 2020). Portanto, nossos achados, em consonância com a literatura nacional e internacional, destacam a necessidade de se fortalecer as medidas de biosseguridade e manejo na granja, incluindo o controle de vetores e a qualidade da cama e da água, como pontos críticos para a redução da carga bacteriana na fonte (Newell et al., 2011; Sibanda et al., 2018; EFSA, 2020) e, consequentemente, para a melhoria da segurança microbiológica da carne de frango.

A análise da distribuição das espécies de *Campylobacter* nos diferentes pontos dos abatedouros revelou padrões distintos, que refletem a dinâmica de colonização e contaminação cruzada. A predominância de *C. jejuni* nas amostras de "chegada" no Abatedouro A era esperada, dada a sua condição de principal colonizador do trato intestinal de aves (Hermans et al., 2011). Contudo, os perfis observados nos Abatedouros B e C foram mais complexos, com detecção mista significativa de *C. jejuni* e *C. coli* tanto na chegada quanto no ambiente.

A presença concomitante de ambas as espécies no ambiente, especialmente em superfícies e equipamentos, sugere persistência bacteriana, possivelmente devido a falhas na higienização ou recontaminação constante pelo fluxo de produção (Meredith et al., 2013). Esta detecção mista pode refletir a co-colonização dos lotes de aves, um fenômeno comum (García-Sánchez et al., 2017), ou uma extensa contaminação cruzada dentro do abatedouro. A presença expressiva de *C. coli* é notável, podendo estar associada à sua maior resistência intrínseca a estressores ambientais em comparação com *C. jejuni* (Boysen et al., 2014). As disparidades na distribuição das espécies de *Campylobacter* entre os três abatedouros analisados

apontam para o papel central das práticas operacionais específicas de cada unidade — como os regimes de higienização, a organização do fluxo produtivo e a implementação de barreiras de biosseguridade — na modulação da prevalência e na propagação desses patógenos no ambiente de processamento, corroborando as observações da EFSA (2020).

A análise da distribuição dos genes associados à síntese de sialização (cstII e neuA) revelou um padrão não restrito a uma única espécie. Dos isolados positivos para o gene cst*II*, a maioria (n=18) foi identificada como *C. jejuni*, com dois pertencentes a *C. coli* e um número considerável (n=25) de isolados inicialmente classificados apenas como *Campylobacter* spp., os quais na verdade correspondiam a uma co-contaminação por *C. jejuni* e *C. coli*. Essa observação é particularmente relevante, evidenciando a ocorrência de infecções mistas e a circulação simultânea de ambas as espécies que podem estar carreando genes associados à Síndrome de Guillain-Barré. Este cenário não é incomum, uma vez que a co-colonização de lotes avícolas por múltiplas espécies de *Campylobacter* é um fenômeno documentado, criando um nicho propício para interações genéticas (García-Sánchez et al., 2017). A presença do *cstII* neste contexto pode indicar que ambas as espécies compartilham este importante determinante de virulência, possivelmente devido à sua retenção em linhagens específicas de *C. coli* ou, de forma mais impactante, à ocorrência de transferência horizontal de genes (HGT) dentro do operon de sialilação, mecanismo facilitado pela co-colonização (Shenekar et al., 2018; Kalyan et al., 2021). Essa observação expande o potencial risco à saúde pública, uma vez que o gene *cstII* está diretamente associado à síntese de estruturas moleculares indutoras de neuropatias graves como a síndrome de Guillain-Barré, sugerindo que tal potencial patogênico pode não ser exclusivo de *C. jejuni* (Godschalk et al., 2004).

A distribuição do gene *neuA* reforça e expande a conclusão de que os determinantes genéticos da sialilação não são restritos a *C. jejuni*. Embora sua maior prevalência nesta espécie (n=23) reflita seu papel como principal hospedeiro, sua detecção em *C. coli* (n=2) e, sobretudo, em um número expressivo de amostras de co-contaminação por *C. jejuni* e *C. coli* (n=29), sugere que neu*A* não constitui um marcador molecular estritamente específico para *C. jejuni* na população estudada, um

achado que corrobora relatos de que os loci de sialilação podem ser encontrados em diferentes espécies do gênero (Gilbert et al., 2002; Parkhill et al., 2000).

Quando avaliamos os perfis dos genes *neuA* e *cstII*, observa-se que ambos apresentam uma forte similaridade com o gene de *C. jejuni*, conforme descrito na literatura, onde *cstII* tem a função de codificar uma sialiltransferase que é essencial para a biossíntese de lipo-oligossacarídeos (LOS) que mimetizam gangliosídeos humanos (Gilbert et al., 2002; Richards et al., 2013) e *neuA* é fundamental para os sistemas de glicosilação associados à virulência (Amon et al., 2012). No entanto, a detecção destes genes em uma proporção significativa de amostras de co-contaminação por *C. jejuni* e *C. coli*, sugerindo que sua distribuição não é específica (Parkhill et al., 2000; Sheppard et al., 2008).

Nas análises das árvores filogenéticas de nucleotídeos e aminoácidos do gene cst*II*, apesar da similaridade há um fato relevante, uma discrepância filogenética observada na amostra 405. A mudança de clado observada para a amostra 405 entre as filogenias de nucleotídeos e aminoácidos do gene *cstII* pode ser atribuída a dois mecanismos evolutivos não excludentes. A pressão seletiva diferencial atua de forma distinta em cada nível molecular: enquanto a árvore baseada em nucleotídeos reflete a história evolutiva neutra da linhagem (incluindo mutações sinônimas), a árvore de aminoácidos captura apenas as alterações não sinônimas, que são filtradas pela seleção natural sobre a função da proteína. A similaridade proteica entre as amostras 405 e 514, portanto, pode resultar de evolução convergente ou seleção positiva por uma vantagem adaptativa comum em seus respectivos nichos (evisceração e tanque de pré-resfriamento), independentemente de sua ancestralidade nucleotídica mais ampla (Tang et al., 2012). Outro fator, pode ser devido recombinação gênica ou transferência horizontal (HGT), o operon de sialilação é uma região genômica reconhecidamente plástica e sujeita a trocas genéticas entre linhagens de *Campylobacter* (Gilbert et al., 2002). É possível que a amostra 405 tenha adquirido uma variante recombinante do gene *cstII*, na qual a sequência codificante (analisada via aminoácidos) tenha origem distinta das regiões não codificantes ou dos genes flanqueadores (que influenciam o sinal filogenético nos nucleotídeos). Essa incongruência na história evolutiva é frequentemente resolvida de maneira divergente pelos algoritmos filogenéticos quando aplicados a diferentes substratos, explicando a

mudança de agrupamento (Sheppard et al., 2013). Assim, a discordância filogenética da amostra 405 pode representar um indicador da dinâmica evolutiva e da plasticidade genética do locus *cstII* em resposta a pressões ambientais e eventos de recombinação (Nei e Kumar, 2000)

O agrupamento proteico da amostra 405 (evisceração) com a 514 (pré-resfriamento) indica a circulação de uma variante funcional comum, aponta para uma adaptação convergente, provavelmente moldada por seleção positiva nesse ambiente (Gilbert et al., 2002; Tang et al., 2012). Como seus antecedentes genéticos diferem, essa característica funcional pode se disseminar por transmissão horizontal e não apenas por descendência clonal, evidenciando uma limitação do rastreamento baseado apenas em nucleotídeos para a avaliação de risco (Sheppard et al., 2013).

A formação de um único clado principal contendo isolados de lotes distintos (403-410 e 423-427) com linhagens clínicas de referência indica uma possível contaminação cruzada no abatedouro. Este padrão demonstra que uma linhagem específica de *C. jejuni* portadora do gene de virulência *cstII,* pode ter se disseminada durante o processamento, atingindo os produtos finais independentemente do lote de origem, o que amplifica o risco à saúde pública (Meredith et al., 2013). A correlação entre a estrutura filogenética e a data de coleta reforça que esta linhagem possivelmente foi introduzida na chegada das aves e se propagou no ambiente, destacando a dinâmica de disseminação de clones virulentos no sistema (Sheppard et al., 2013).

O agrupamento filogenético dos isolados 425, 426 e 514 (portadores do gene *cstII*) com sequências de referência, associadas a sorotipos de alto risco como HS:19 e HS:41 (Gilbert et al, 2002), de origem clínica correlacionadas à SGB, como AY422197.1 e DQ102714.1 (Godschalk et al., 2004; Parker et al., 2005) constitui um achado de elevada relevância para a segurança alimentar. Este resultado demonstra que as linhagens de *Campylobacter* circulantes no ambiente do abatedouro possuem identidade genética próxima a cepas comprovadamente neuropatogênicas isoladas de humanos.

O gene *cstII* é um componente central desencadeador da SGB pós-infecção por *Campylobacter* (Godschalk et al., 2004). Portanto, a detecção de isolados de *cstII+* filogeneticamente relacionados a cepas causadoras dessa síndrome, indica que o

potencial para desfechos clínicos graves não é apenas teórico, mas concretamente representado por linhagens em circulação na cadeia produtiva avícola**.** Este vínculo genômico direto entre isolados de abatedouro e sequências clínicas reforça a importância do frango como um reservatório crítico de linhagens de *Campylobacter* com alto potencial patogênico, podendo inferir que as estratégias de controle considerem não apenas a prevalência, mas também a virulência intrínseca das cepas circulantes (Kalyan et al., 2021).

Em contraste com a discordância filogenética observada para o gene *cstII*, as análises do gene *neuA* revelaram uma notável concordância topológica entre as árvores construídas a partir de nucleotídeos e de aminoácidos. Esta consistência sugere que o gene *neuA*, neste conjunto de isolados, está sujeito a uma pressão seletiva mais conservadora e/ou é menos propenso a eventos de recombinação que quebrem o sinal filogenético, resultando em uma história evolutiva mais estável e congruente entre sua sequência genética e seu produto funcional (Tang et al., 2012). A estrutura dos clados formados oferece um claro retrato da disseminação e persistência de linhagens específicas dentro de cada abatedouro. A formação de clados compostos exclusivamente por amostras da mesma coleta (como o clado do Abatedouro C, 2ª coleta) sugere a introdução e circulação pontual de uma linhagem distinta, que não se estabeleceu de forma persistente ou não foi detectada nas coletas subsequentes. Por outro lado, agrupamentos como o do Clado 3, que congrega uma amostra de cloaca (316, 3ª coleta) com amostras de produto final (5ª coleta) do mesmo abatedouro (B), são epidemiologicamente significativos. Este padrão fornece evidência filogenética direta de que uma linhagem específica de *Campylobacter* portadora do gene neu*A*, detectada no intestino das aves na chegada, conseguiu percorrer toda a cadeia de processamento e contaminar o produto final**,** possivelmente mantendo-se no ambiente através de nichos de persistência ou por contaminação cruzada recorrente (Meredith et al., 2013; Sheppard et al., 2013).

As amostras 473 e 514, posicionadas de forma distante nos clados 1 e 2, respectivamente, podem representar linhagens filogeneticamente únicas ou introduções independentes. Particularmente, a amostra 514, isolada do tanque de pré-resfriamento na 5ª coleta, pode indicar a colonização de um nicho ambiental específico (como um biofilme em equipamento) por uma linhagem distinta daquelas circulantes

nas aves, destacando a importância do ambiente do abatedouro como reservatório secundário (García-Sánchez et al., 2017).

4. Conclusão

Este estudo demonstra que a contaminação por *Campylobacter* na cadeia avícola tem origem pré-abate, mas sua amplificação e perfil final são definidos pela dinâmica interna do abatedouro, onde a contaminação cruzada e a persistência ambiental são determinantes. A análise filogenética dos genes *cstII* e *neuA* revelou a circulação de linhagens geneticamente vinculadas a cepas clínicas de alto risco, como as associadas à Síndrome de Guillain-Barré, indicando que o perigo à saúde pública está associado a clones específicos com potencial neuropatogênico. A detecção de co-contaminação e eventos de transferência gênica evidencia a plasticidade genômica do patógeno. As diferenças marcantes entre os abatedouros estudados confirmam que fatores operacionais, como higienização e biosseguridade, são cruciais para modular o risco microbiológico final.

5. Referências

Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. (1999). Campylobacter jejuni--an emerging foodborne pathogen. **Emerg Infect Dis.** Jan-Feb; v.5, n.1, p.28-35. doi: 10.3201/eid0501.990104. PMID: 10081669; PMCID: PMC2627687.

Amon, P., Klein, D., Springer, B., Jelovcan, S., Sofka, D., Hilbert, F., et al. (2012). Analysis of Campylobacter jejuni isolates of various sources for loci associated with Guillain-Barré syndrome. **Eur. J. Microbiol. Immunol**. 2, 20–23. doi: 10.1556/EuJMI.2.2012.1.4.

Borges KA, Cisco IC, Furian TQ, Tedesco DC, Rodrigues LB, Do Nascimento VP, Dos Santos LR. (2020). Detection and quantification of Campylobacter spp. in Brazilian poultry processing plants. **J Infect Dev Ctries**. v.Jan, n.31;14(1), p.109-113. doi: 10.3855/jidc.11973.

Boysen L. et al. (2014). Source attribution of human campylobacteriosis in Denmark. **Epidemiology & Infection**, v. 142, n. 8, p. 1599-1608.

Duvaud, S., Gabella, C., Lisacek, F., Stockinger, H., Ioannidis, V., Durinx, C. (2021): Expasy, the Swiss Bioinformatics Resource Portal, as designed by its users. – Nucleic Acids Res 49(W1): W216-W227.

EFSA (European Food Safety Authority). (2020). Update and review of control options for Campylobacter in broilers at primary production. **EFSA Journal,** 18(4), e06090.

Ellis-Iversen J, Ridley A, Morris V, Sowa A, Harris J, Atterbury R, Sparks N, Allen V. (2012). Persistent environmental reservoirs on farms as risk factors for Campylobacter in commercial poultry. **Epidemiol Infect.** May; v.140, n.5, p.916-24. doi: 10.1017/S095026881100118X. Epub 2011 Jul 25. PMID: 21781366.

GARCÍA-SÁNCHEZ, L. et al. (2017). Prevalence and pathogenic potential of *Campylobacter* isolates from free-living, human-commensal American crows. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 9, e02907-16.

Gilbert M, Karwaski MF, Bernatchez S, Young NM, Taboada E, Michniewicz J, Cunningham AM, Wakarchuk WW. (2002). The genetic bases for the variation in the lipo-oligosaccharide of the mucosal pathogen, Campylobacter jejuni. Biosynthesis of sialylated ganglioside mimics in the core oligosaccharide. **J Biol Chem.** Jan v.4, n.277(1), p.327-37. doi: 10.1074/jbc.M108452200.

Godschalk, P. C. R. et al. (2004). Campylobacter jejuni-induced Guillain-Barré syndrome: the role of molecular mimicry and host susceptibility. **Reviews in Medical Microbiology,** v.15(3), p.109-118.

Godschalk, P. C. R., et al. (2006). Association between *Campylobacter jejuni* genotypes and the risk of Guillain-Barré syndrome. *Clinical Infectious Diseases*, 42(1), 22-29

Hermans, D., et al. (2011). *Poultry as a host for the zoonotic pathogen Campylobacter jejuni*. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases,** v.11, n.8, p.1227-1232.

Huang, J., et al. (2020)**.** Efficacy of interventions applied during primary processing on Campylobacter in poultry: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Food Microbiology,** v.332, 108765

Hughes RA, Cornblath DR. (2005). Guillain-Barré syndrome. **Lancet**. Nov, v.366, n.9497, p.1653-66. https://doi.org/10.1016/S01406736(05)67665-

Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. (2015). Global Epidemiology of Campylobacter Infection. **Clin Microbiol Rev**. Jul; v.28, n.3, p.687-720. doi: 10.1128/CMR.00006-15. PMID: 26062576; PMCID: PMC4462680.

Kalyan R. et al. (2021). Genetic diversity and relationship of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from broiler chickens, poultry slaughterhouse, and humans. **Frontiers in Microbiology**, v. 12.

Kim J, Shin H, Park H, Jung H, Kim J, Cho S, Ryu S and Jeon B (2019) Microbiota Analysis for the Optimization of *Campylobacter* Isolation From Chicken Carcasses Using Selective Media**. Front. Microbiol.** 10:1381. doi: 10.3389/fmicb.2019.01381.

Kumar S, Stecher G, Tamura K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Mol Biol Evol.** v.Jul;33(7):1870-4. doi: 10.1093/molbev/msw054.

Melo RT, Mendonça EP, Monteiro GP, Siqueira MC, Pereira CB, Peres PABM, Fernandez H and Rossi DA (2017) Intrinsic and Extrinsic Aspects on *Campylobacter jejuni* Biofilms. **Front. Microbiol**. 8:1332. doi: 10.3389/fmicb.2017.01332.

Meredith, H., et al. (2013)**.** *Campylobacter* contamination during poultry slaughter: A review. **British Poultry Science,** v.54, n.2, p.108-117.

Neal-McKinney JM, Liu KC, Jinneman KC, Wu W-H and Rice DH (2018) Whole Genome Sequencing and Multiplex qPCR Methods to Identify *Campylobacter jejuni* Encoding *cst-II* or *cst-III* Sialyltransferase. **Front. Microbiol**. v.9:408. doi: 10.3389/fmicb.2018.00408.

Nei M, Kumar S. (2000). Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press.

Newell, D. G., et al. (2011). Biosecurity-based interventions and strategies to reduce Campylobacter spp. on poultry farms**. Applied and Environmental Microbiology**, v.77, n.24, p. 8605-8614.

Oh E, McMullen L, Jeon B. (2015). High Prevalence of Hyper-Aerotolerant Campylobacter jejuni in Retail Poultry with Potential Implication in Human Infection. **Front Microbiol**. Nov, v. 12, n.6, p.1263. doi: 10.3389/fmicb.2015.01263. PMID: 26617597; PMCID: PMC4641907.

Parker CT, Horn ST, Gilbert M, Miller WG, Woodward DL, Mandrell RE (2005) Comparison of Campylobacter jejuni lipooligosaccharide biosynthesis loci from variety of sources. **J Clin Microbiol** v.43, p.2771-2781.

Parkhill J, Wren BW, et al. (2000). Genome sequence of ***Campylobacter jejuni*** strain NCTC11168 suggests genome plasticity by horizontal gene transfer. **Nature.** Feb v.3, n.403(6770):665-8.

Perdoncin G, Argello YMS, Lima LM, Furian TQ, Borges KA, Rodrigues LB, dos Santos L.R, Borsoi A, Isolan LW, Gomes MJP.; et al. (2022). Detection and quantification of Campylobacter in poultry slaughterhouses using conventional microbiological technique, most probable number, and real-time PCR. **Foodborne Pathog. Dis**. v.19, p.143–150.

Pozza JS, Voss-Rech D, Lopes LS, Vaz CSL. (2020). Research Note: A baseline survey of thermotolerant Campylobacter in retail chicken in southern Brazil, **Poultry Science,** v.99, n.5, p. 2690-2695, ISSN 0032-5791, https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.061.

Prachantasena S, Charununtakorn P, Muangnoicharoen S, Hankla L, Techawal N, Chaveerach P, et al. (2016) Distribution and Genetic Profiles of *Campylobacter* in Commercial Broiler Production from Breeder to Slaughter in Thailand. **PLoS ONE** v.11, n.2.: e0149585. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149585.

Richards VP, Lefebure T, Pavinski Bitar PD, Stanhope MJ. (2013). Comparative characterization of the virulence gene clusters (lipooligosaccharide [LOS] and capsular polysaccharide [CPS]) for Campylobacter coli, Campylobacter jejuni subsp. jejuni and related Campylobacter species. **Infect Genet Evol**. v.14, p.200–213.

Sheppard SK, McCarthy ND, Falush D, Maiden MC. (2008). Convergence of Campylobacter species: Implications for bacterial evolution. **Science**, v. 320, p.237–239.

Sibanda, N., et al. (2018). A review of the effect of management practices on campylobacter prevalence in poultry farms. **Frontiers in Microbiology,** v.9, n.200.

Würfel FR, da Silva WP, de Oliveira MG, Kleinubing NR, Lopes GV, Gandra EA, O Dellagostin AO. (2019). Genetic diversity of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from poultry meat products sold on the retail market in Southern Brazil, **Poultry Science**, v.98, n. 2, p.932-939.ISSN 0032-5791, https://doi.org/10.3382/ps/pey365.

CAPÍTULO 4 - Occurrence of Foodborne Pathogens and Monitoring of Antimicrobial Resistance in Broiler Chicken Brazilian Slaughterhouses

Abstract

Several stages of poultry slaughter and processing are critical and can favor carcass contamination by pathogens of One Health importance. This study aimed to investigate the occurrence and distribution of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Listeria monocytogenes* throughout the processing process in three medium-sized slaughterhouses under state inspection, located in the state of São Paulo, Brazil. Samples were collected at six critical points (birds at reception, pre-slaughter, plucking machines, evisceration room, cooling, and packaging room) using cloacal swabs, environmental swabs, and water samples. Detection was performed using microbiological methods, with *Salmonella* spp. serotyping and antimicrobial susceptibility testing of the isolates. The frequency of contaminating pathogens in the samples was 13.3% (24/180) for *S. enterica*, 36.6% (22/60) for *E. coli*, and 18.3% (11/60) for *L. monocytogenes*. *Salmonella* isolates serotyping revealed a diverse profile, with *S.* Agona (present in all three slaughterhouses) and *S.* Heidelberg being the most prominent. *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolates exhibited resistance profiles to medically important antimicrobials, including ceftazidime, cefuroxime and ciprofloxacin. The results highlight that poultry slaughter has critical points for contamination by enteric bacteria, which are detected at different stages of processing and also in the final products. The diversity of *Salmonella* serotypes, including the presence of *S.* Agona and *S.* Heidelberg, associated with resistance profiles to medically important antimicrobials, demonstrates the epidemiological complexity of the problem and its potential risks to One Health. It is concluded that there is a need to review sanitary barriers and continuously monitor antimicrobial resistance along the slaughter line.

Keywords: Food safety, Microbiological contamination, One Health, Poultry farming

1. Introduction

Brazil is one of the world's leading chicken meat producers and exporters, which improves the worldwide economic throughout a nutritionally high-quality protein at an affordable cost to the domestic and international markets (ABPA, 2024). Chicken meat is recognized as an excellent source of protein, B vitamins, minerals, and has low levels of saturated fat (FAO, 2010; Santos et al., 2023).

However, the runways for the high-productivity poultry meat can favor the contamination by pathogens at any stage of the production chain, from the rearing environment to marketing (Steffens et al., 2017; Hessel et al., 2019). Microorganisms such as *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Listeria* spp. can be spread by meat, posing a risk to public health (Forsythe, 2002; Steffens et al., 2017; Bhaisare et al., 2014).

Salmonella enterica (*S*. *enterica*) and *Escherichia coli* (*E*. *coli*) are two major pathogens that pose a growing threat to public health, not only as agents of foodborne illnesses, but also as disseminators of antimicrobial resistance in the poultry production chain (Saraiva et al., 2022a). The ability of both microorganisms to maintain and transfer antimicrobial resistance genes (ARGs), enhanced by off-label use of drugs in animal production, makes them a priority focus for surveillance (Saraiva et al., 2022a; Shah et al., 2017; Swelum et al., 2021). Besides these pathogens, *Listeria* spp. can be carried by birds, although they do not develop clinical disease (Souza, 2021); they can disseminate this bacterium to the environment and carcasses due to failures in hygiene procedures on slaughterhouses (Dhama et al., 2013; Lofstedt, 2019). However, little is known about the prevalence of this pathogen in birds and poultry products.

To control and prevent these pathogens, the antimicrobials are traditionally misused in poultry farming for therapeutic purposes, when not used as a performance enhancer, although antimicrobial use in animal production has been increasingly restricted (Garcia, 2014; Molina-Santiago et al., 2018). This change stems from the governmental embargos and from health authorities attempting to reduce the emergence of resistant strains, due to pressure from consumers, increasingly responsible for the quality of food products (Antunes et al., 2016; Reis et al., 2018). For instance, residues of these drugs can persist in the meat and reach the consumer,

potentially increasing the selection of resistant intestinal bacteria (Fukayama et al., 2015).

This study aimed to evaluate the occurrence and distribution of pathogens with an impact on public health in the slaughter and carcass processing stages of poultry. Moreover, the antimicrobial resistance profile in *S. enterica* serotypes and *E. coli* isolates recovered in the study.

2. Materials and Methods

2.1 Experimental design

A cross-sectional study was conducted to assess the prevalence of *S. enterica*, *E. coli*, and *Listeria* spp. across various sections of the production process. The selection of sampling points was based on the potential risk of microbial contamination, characterizing a sampling approach directed at critical control points (CCPs) and environmental monitoring points, as reported in previous studies (Mohamed et al., 2008; Costa et al., 2009; Zhao et al., 2020; Izquierdo, 2025).

2.2 Sampling collection location and procedures

Samples were collected from three commercial poultry slaughterhouses (A, B, and C) certified by the SISP (State Animal Product Inspection System) (with small to medium capacity) located in the Northeast and Northwest regions of the São Paulo State. Samples were obtained from strategic points along the processing line, from the reception of the birds to the final product, considered to be at high risk for microbial contamination (Table 1). Collected swabs have been previously moistened in saline solution (0.85%).

The distribution of samples varied according to the target microorganism and the critical collection point. For *Salmonella enterica*, 180 samples have been collected, distributed across six critical points: cloacal swabs, transport boxes, poultry plucker swabs, swabs from the evisceration area, water from tanks, and final products. For *Escherichia coli*, 60 samples were collected, with 30 from livers and 30 from carcasses. For *Listeria* spp., 60 samples, with 30 swabs from the evisceration area and 30 from carcass samples. All samples were kept under refrigeration (4 to 10 °C) until they arrived at the laboratory. The processing of all samples was carried out shortly after

arrival at the laboratory of Institute Biological, Advanced Division of Research and Development in Poultry Health (IB-DIASA), on the same day of collection, ensuring the integrity and reliability of the results. All confirmed isolates were then stored at −80 °C for later analysis.

2.2.1 *Salmonella enterica* isolation and identification

The isolation and presumptive identification of *Salmonella enterica* were carried out according to the ISO 6579:2021 method. Briefly, samples were subjected to pre-enrichment in buffered peptone water (BPW) (BD Becton Dickinson) at 34–38 °C for 18 h. Then, aliquots of the culture were transferred to Rappaport-Vassiliadis (RV) (BD Becton Dickinson) and Muller-Kauffmann tetrathionate/novobiocin (MkTTn) (Oxoid) medium broths and incubated at 41.5 °C and 37 °C, respectively, for 24 h. An aliquot from each medium was transferred to selective xylose lysine deoxycholate (XLD) (BD Becton Dickinson) and Hektoen (Difco) agars, with incubation at 34–38 °C for 24 h. *Salmonella* spp. suggestive colonies were subjected to biochemical tests using Triple Sugar Iron agar (TSI) (BD Becton Dickinson), urea agar (BD Becton Dickinson), lysine broth (BD Becton Dickinson), and tryptophan broth (Synth). Biochemically confirmed samples were serotyped using the agglutination technique based on the Kauffmann-White scheme (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014) at the Laboratory of Enteric Pathogens of the Adolfo Lutz Institute, Sao Paulo, Brazil.

2.2.2 *Escherichia coli* identification

Samples were inoculated into brain heart infusion (BHI) broth (Difco) and incubated at 37 °C for 24 hours. After, an aliquot was transferred to MacConkey agar (Difco) and incubated at 37 °C for 24 hours. Lactose-positive colonies with morphology suggestive of *E. coli* were confirmed by biochemical tests using TSI (BD Becton Dickinson), urea broth (Synth), lysine iron agar (LIA) (BD Becton Dickinson), and sulfide, indole, and motility medium (SIM) (BD Becton Dickinson), and the ornithine test (Inlab) (Silva et al., 2007).

2.2.3 Listeria monocytogenes identification

Listeria monocytogenes identification was carried out according to ISO 11290-1:2020. Samples were subjected to selective pre-enrichment in Half-Fraser broth (Neogen) and incubated at 30 °C for 24 h. Subsequently, aliquots of the culture were transferred to Fraser broth (Neogen) and incubated at 37 °C for 24 h. After that, streaking was performed on Oxford agar and agar *Listeria* according to Ottaviani and Agosti (ALOA) (Neogen), with incubation at 37 °C for up to 48 h. Suggestive colonies were subjected to confirmation by Gram staining, catalase test, hemolysis assessment on blood agar, and fermentation tests of the carbohydrates L-rhamnose and D-xylose.

2.3 Antimicrobial susceptibility test

Antimicrobial susceptibility test (AST) was performed for *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* confirmed isolates using the VITEK® 2 automated system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). For this purpose, aliquots of 50 to 200 µL of the bacterial inoculum were transferred to 2.8 mL of 0.45% saline solution, adjusting the turbidity to the 0.5 McFarland scale. Considering the clinical and epidemiological relevance of antimicrobials to human health, the AST-N409 diagnostic card (bioMérieux) was selected for AST. This card contains the following drugs: amikacin (AMK), aztreonam (ATM), cefepime (FEP), ceftazidime (CAZ), ceftolozane-tazobactam (C/T), cefuroxime (CXM), ciprofloxacin (CIP), ertapenem (ETP), gentamicin (GEN), piperacillin-tazobactam (TZP), and tigecycline (TGC), allowing the simultaneous antimicrobial susceptibility profile determination of each isolate.

3. Results and Discussion

3.1. Pathogens occurrence

The microbiological analysis performed in this study revealed the presence of these three important foodborne pathogens throughout the slaughter and processing stages of broiler chickens, highlighting challenges to improve the microbiological quality of this food.

Of the 180 samples analyzed for *S. enterica*, 24 (13.3%) were positive. *E. coli* was detected in 22 (36.6%) of the 60 samples, and *Listeria monocytogenes* was isolated in eleven (18.3%) of the 60 sampled locations, as described in Table 2. The

results obtained for *S*. *enterica*, *E*. *coli*, and *L*. *monocytogenes* corroborate the existing literature, which indicates that slaughterhouses are sources of bacterial contamination and dissemination (Rouger et al., 2017; Heredia & García, 2018; FDA, 2023).

The detection of *S. enterica* in 13.3% of the analyzed samples is an important finding for production and human health worldwide, although this problem affects various countries differently. For instance, in Brazil, the occurrence of *Salmonella* spp. in chicken carcasses can vary widely; studies in slaughterhouses in the South reported frequencies ranging from low to moderate levels, depending on the slaughter stage and the rigor of the Self-Control Programs (Lima et al., 2002; Miranda, 2023; Pino et al., 2025). The presence of this pathogen, even at moderate levels, is concerning due to its potential to cause salmonellosis outbreaks and its ability to persist in the processing environment through survival mechanisms, such as biofilm formation and antimicrobial resistance (Marin et al., 2022; Saraiva et al., 2022a).

As a result of an issue experienced with bacterial storage, just 14 of the 24 *S*. *enterica* isolates could be subjected to serotyping, a serological diversity profile was observed among poultry slaughterhouses A, B, and C. The *Salmonella* Agona and *S*. Heidelberg serotypes predominated, with the first serovar showing widespread dissemination, having been isolated in all investigated establishments; *S*. Adelaide and *S*. Senftenberg were found in two different sites of two slaughterhouses (Table 3). This distribution suggests a possible ecological adaptation or recurrent environmental contamination, which may represent a challenge for control measures at different stages of production, and highlights the complex epidemiological dynamics of this pathogen in the poultry production chain (Foley et al., 2011). As shown in Table 3, the detection of *S*. Heidelberg at multiple processing points (reception, pre-slaughter, and packaging room) at Slaughterhouse B is concerning, given its clinical relevance and for frequently exhibiting multidrug resistance profiles, potentially increasing the risk to public health (Shah et al., 2017; CDC, 2022).

S. Agona has been associated with several outbreaks of foodborne illnesses in recent decades worldwide. A wide range of foods and animal products, including infant formula, meat, chicken, and eggs, have been linked to outbreaks (Authority EFS, 2017). In recent years, this serovar has been among the top 20 causing infections in humans (Hoffmann et al., 2020).

The isolation of distinct *Salmonella* strains at specific processing stages (*S*. Heidelberg in the packaging room and *S*. Senftenberg and *S*. Agona in the evisceration room) points to diverse sources of contamination within the same slaughterhouse. This result highlights the need for hygiene and control measures adapted to each phase to interrupt cross-contamination and mitigate the spread of serotypes of epidemiological importance (Buncic et al., 2016; Rasschaert et al., 2019).

On the other hand, the presence of *E. coli* in 36.6% of the samples acts as a highlight, since this microorganism is an indicator of hygiene and fecal contamination. There is a high detection rate of *E. coli* in meat products, with chicken being one of the most contaminated products (Brito Junior et al., 2025). In addition to being an indicator of failures in hygiene and handling processes, the presence of *E. coli* in slaughterhouses is a warning sign of the possible circulation of pathogenic isolates and, crucially, the dissemination of antimicrobial resistance genes, even under refrigeration conditions (Gehlen, 2016; Campos et al., 2024).

L. monocytogenes had an occurrence of 18.3% aligns with studies that demonstrate the presence of this pathogen in food processing environments of animal origin (Brasileiro, 2020; Cavalcanti, 2022). It is an opportunistic pathogen that causes high mortality rates in at-risk groups (Radoshevich & Cossart, 2018; CDC, 2022). Moreover, its ability to survive in the cold and humid environments of slaughterhouses favors its persistence (Dias, 2016). Detection in sampled locations suggests the formation of contamination niches that may compromise the safety of the final product if there is no rigorous sanitation control.

3.2. Antimicrobial susceptibility

Table 4 shows a diversity of antimicrobial resistance profiles in the recovered *Salmonella* serotypes from different sites in the poultry production.

Based on resistance profiles, the 14 *Salmonella* spp. isolates were classified into five distinct groups: Profile 1 (PI) - comprising isolates S1, S3, S4, S7, S9, S11, and S13 - showed sensitivity to all tested antimicrobials. On the other hand, PII and PIII exhibited similar profiles, restricted to intermediate and resistant to ciprofloxacin, respectively. The last profiles carried isolates resistant to cefuroxime and ceftazidime (PIV) or isolates resistant to cefuroxime and ceftazidime, and intermediate to

ciprofloxacin (PV); differently from *E. coli* isolates, no *S. enterica* isolate was characterized as multidrug-resistant (MDR).

The PI, although composed of seven pansusceptible isolates, represents an unwanted circulation of these pathogens in the poultry production system. However, when susceptible and resistant strains share the same environment, horizontal transfer of resistance genes between them can occur (Partridge et al., 2018; Saraiva et al., 2022b).

Profiles PII and PIII carrying isolates with intermediate and resistant to ciprofloxacin (CIP), respectively, a fluoroquinolone classified as critically important for human medicine by the WHO (WHO, 2019). The occurrence of intermediate (PII - *S*. Adelaide and *S*. Agona) and resistant (PIII - *S*. Agona and *S*. Senftenberg) profiles to this antimicrobial is an important finding, especially for epidemiological monitoring surveillance. Particularly alarming is the resistance observed in *S*. Agona and *S*. Adelaide, which can be linked to mutations in target genes (especially *gyr*A and *par*C) or active efflux systems (Tyson et al., 2015). The presence of this phenotype in serotypes frequently associated with human outbreaks increases the risk to public health (Saraiva et al., 2022a; Benevides et al., 2024).

Even more worrying profiles showed resistance to cefuroxime and ceftazidime (PIV - S10), and resistance to the aforementioned cephalosporins, as well as to an intermediate to ciprofloxacin (PV - S8 and S12). Concomitant resistance to broad-spectrum cephalosporins and fluoroquinolones drastically reduces empirical therapeutic options for invasive salmonellosis in cases of human infection. Although the genotype profile has not been addressed in this study, these profiles are suggestive of the production of ESBL enzymes carried or not by resistance plasmids carrying multiple resistance genes (Mukerji et al., 2017; EFSA, 2022). The detection of these phenotypes in epidemiologically relevant serotypes such as *S*. Heidelberg and *S*. Agona is worrying, positioning the slaughter environment not only as a point of contamination but also as a potential reservoir of bacteria resistant to antimicrobials, critically important for human medicine.

Table 5 presents the diversity of antimicrobial resistance profiles in nine recovered *E. coli* isolates, classified into four distinct antimicrobial resistance profiles. Based on the profiles, the isolates were allocated and categorized into four profiles:

isolates from Profile 1 (P1), E1, E2, E5, and E7 - exhibited intermediate resistance (I) to CIP; Profile 2 (P2), E3, and E6 - showed resistance (R) to CIP and GEN; Profile 3 (P3), E4 and E9 - consisted of isolates resistant only to GEN; finally, Profile 4, represented by E8 isolate, presented a multidrug resistance (MDR) profile, with resistance to GEN, CIP, and CFM, besides intermediate to CAZ.Intermediate resistance to ciprofloxacin (a fluoroquinolone) of critical importance in human medicine, exhibited by P1 (E1, E2, E5, E7), may represent an initial stage in the development of full resistance to this class of antibiotics. This phenomenon is a warning, since the use of enrofloxacin (also a fluoroquinolone) in veterinary medicine can exert cross-selective pressure, contributing to the selection of strains resistant to quinolones in general (WHO, 2019), reflecting selective pressure and dissemination of resistance genes in broiler production (Hennart et al., 2020; Liz et al., 2024).

The profiles P2 (E3 and E6) and P3 (E4 and E9), with demonstrating, respectively, resistance to ciprofloxacin and gentamicin, and only to gentamicin, can be linked to the use of these drugs in an independent or combined way by poultry veterinarians. The presence of resistance to gentamicin, an aminoglycoside frequently used in animals, corroborates findings from other studies that point to the poultry production environment as a significant reservoir for resistance genes to this class (Wang et al., 2019; Viana et al., 2022; EFSA, 2024).

The isolate E8 (profile 4) was classified as multidrug-resistant (MDR), meeting the criterion of resistance to three or more classes of antimicrobials (Magiorakos et al., 2012). This profile, showing resistance to an aminoglycoside (GEN), a fluoroquinolone (CIP), and a second-generation cephalosporin (CXM), in addition to showing reduced sensitivity to a third-generation cephalosporin (CAZ), is particularly alarming. This pattern suggests the possible coexistence of multiple resistance mechanisms, such as beta-lactamases (including possible Extended-Spectrum Beta-Lactamases - ESBLs), alterations in porins, and efflux pumps or mutations in quinolone targets (Bush and Bradford, 2020). The detection of an isolate with this profile in an animal production environment highlights the potential of these environments as points of emergence and amplification of last-line drug-resistant bacteria, with direct implications for public health due to the risk of transmission through the food chain or the environment (DS & Divya, 2023).

4. Conclusion

Our findings indicated the worrying bacteria circulation of public health importance, some exhibiting multidrug resistance profiles to antimicrobials, in chicken carcasses and in areas of the slaughter line. Therefore, the implementation of good practices for the prudent use of antimicrobials in animal production and the reinforcement of hygiene and sanitation measures at critical points in poultry slaughter are essential measures to mitigate this problem and produce food that does not pose a risk to the consumer.

5. References

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. *Relatório Anual 2024*. 2024. Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2024/04/ABPA-Relatorio-Anual-2024_capa_frango.pdf

Benevides, V. P., Saraiva, M. M. S., Nascimento, C. F., Delgado-Suárez, E. J., Oliveira, C. J., Silva, S. R., ... & Berchieri Junior, A. (2024). Genomic features and phylogenetic analysis of antimicrobial-resistant *Salmonella* Mbandaka ST413 strains. **Microorganisms**, *12*(2), 312.

Brasileiro, A. C. M. et al. (2025). Risk Factors and Prevalence of *Salmonella* spp. in Poultry Carcasses in Slaughterhouses Under Official Veterinary Inspection Service in Brazil. *Animals*.

Brito-Junior L, Brito HC, Simões MM, Farias JHA, Santos B, Marques FMC, Medeiros MAA, Alves MS, Pereira CT, Diniz AF, Vilela VLR, Silva DR, Oliveira-Filho A. (2025). Prevalence of *Escherichia coli* isolates in meat products: a systematic review. **Braz J Biol.** May v.30, p.85: e292127. doi: 10.1590/1519-6984.292127. PMID: 40465954.

Buncic, S. et al. (2016). Interventions to control Salmonella in poultry during processing. *FAO/WHO* **Technical Meeting Report.**

Campos, I. C., Saraiva, M. M., Benevides, V. P., Ferreira, T. S., Ferreira, V. A., Almeida, A. M., & Berchieri Junior, A. (2024). Low temperatures do not impair the bacterial plasmid conjugation on poultry meat. **Brazilian Journal of Microbiology**, *55*(1), 711-717.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2022). *Salmonella* Heidelberg Infections Linked to Chicken. **Outbreak Investigations**.

Dias, D. A. M. Persistência de cepas de *Listeria monocytogenes* em linha de abate. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, 2010.

DS, J. A., & Divya, C. D. (2023). Evolution of antibiotic resistance in bacterial genomes: a comprehensive review. **Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi,** v.*16*, n.2, p.58-77.

EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2023). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, v. 21, n. 12, e8442.

EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2024). The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2021/2022. **EFSA Journal**, v. 22, n. 3, e08549.

FAO; OCDE. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2025-2034*. Paris/Roma: OCDE/FAO, 2025. Disponível em: www.agri-outlook.org

Foley, S. L. et al. (2011). Population dynamics of Salmonella enterica serotypes in commercial egg and poultry production. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 13, 2011, p. 4273–4279.

Gehlen, S. S. Dinâmica de formação de biofilmes multiespécies e efeitos de sanitizantes. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

Heredia, N; García S. (2018) Animals as sources of food-borne pathogens: A review, **Animal Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 250-255, ISSN 2405-6545, https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.006.

Hennart M, Panunzi LG, Rodrigues C, Gaday Q, Baines SL, Barros-Pinkelnig M, Carmi-Leroy A, Dazas M, Wehenkel AM, Didelot X, et al. (2020). Population genomics and antimicrobial resistance in *Corynebacterium diphtheriae*. **Genome Med.** v.12, n.1, p.107. doi: 10.1186/s13073-020-00805-7.

Issenhuth-Jeanjean, S.; Roggentin, P.; Mikoleit, M.; Guibourdenche, M.; De Pinna, E.; Nair, S.; Fields, P.I.; Weill, F.X. Supplement 2008-2010 (n. 48) to the White-Kauffann-Le Minor scheme. **Res. Microbiol**. 2014, 165, 526–530.

Lima MS, Isolan LW, Hessel CT, Pessoa JP, Tondo EC (2018). Prevalence of *Salmonella* spp. in poultry carcasses samples collected in slaughterhouses of Southern Brazil from 2006 to 2015. **Journal of Infection in Developing Countries.** v.12, p.1034–1038. doi: 10.3855/jidc.10290

Li Z, Jia C, Hu Z, Jin Y, Li T, Zhang X, Peng Z, Yang R, Chen H, Wang X. (2024). Antimicrobial resistance and genomic Characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from the poultry industry in Henan Province. China. **Microorganisms.** v.12, n.3, p.575. doi: 10.3390/microorganisms12030575.

Magiorakos, A. P. et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection,** v. 18, n. 3, p. 268–281.

Marin C, Cerdà-Cuéllar M, González-Bodi S, Lorenzo-Rebenaque L, Vega S. (2022). Research Note: Persistent *Salmonella* problems in slaughterhouses related to clones linked to poultry companies. **Poult Sci**. Aug; v.101, n.8:101968. doi: 10.1016/j.psj.2022.101968. Epub 2022 May 21. PMID: 35759998; PMCID: PMC9249845.

Miranda, HNCM. Detecção de *Salmonella* spp. em núcleos avícolas e comparação da qualidade microbiológica. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Tocantins, 2023.

Mukerji, S. et al. (2017). The rise of multidrug-resistant *Salmonella*: The role of horizontally acquired resistance genes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy,** v. 72, n. suppl_2, p. ii3-ii10.

Partridge, S. R. et al. (2018). Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, e00088-17.

Pino M, Mujica K, Mora-Uribe P, Garcias-Papayani H, Paillavil B, Avendaño C, Flores-Crisosto D, Norambuena R, Rojas-Martínez V, Aguilera M, Muñoz NC, Cifuentes P, Pieringer H, Ulloa S. (2025). Research Note: Reduction of *Salmonella* load in Brazilian commercial chicken farms using INSPEKTOR®: a bacteriophage-based product**. Poult Sci.** Jan., v.104, n.1, p.104544. doi: 10.1016/j.psj.2024.104544.

Radoshevich L, Cossart P. (2018). *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. **Nat Rev Microbiol**. Jan, v.16, n.1, p.32-46. doi: 10.1038/nrmicro.2017.126.

Rasschaert, G. et al. (2019) Impact of the slaughter line contamination on the presence of *Salmonella* on broiler carcasses. **Journal of Applied Microbiology**, v.127, n. 1, p. 277-290.

Santos, A. C. et al. (2024). Genomic and phenotypic characterization of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (aEPEC) strains carrying extraintestinal virulence markers. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 4, 2024, p. 12345-12355.

Saraiva, MMS, et al. (2022a). Antimicrobial resistance in the globalized food chain: A One Health perspective applied to the poultry industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 1, 2022, p. 465-486.

Saraiva, M. M. S., Lim, K., do Monte, D. F. M., Givisiez, P. E. N., Alves, L. B. R., de Freitas Neto, O. C., Kariuki S., Berchieri Júnior, A., Oliveira, C. J. B., Gebreyes, W. A. (2022b). Antimicrobial resistance in the globalized food chain: A One Health perspective applied to the poultry industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, *53*(1), 465-486.

Shah, D. H. et al. (2017) Antimicrobial resistance and virulence gene profiles of *Salmonella* Heidelberg isolates from poultry. **Poultry Science**, v. 96, n. 6, p. 1843-1850.

Tyson, G. H. et al. (2015) WGS accurately predicts antimicrobial resistance in *Salmonella*. **Microbial Genomics**, v. 1, n. 6, e000038.

Viana, C. et al. (2022) Aminoglycoside resistance in bacteria from food-producing animals: a global overview. **Frontiers in Microbiology,** v. 13, p.1044-641.

Wang, Y. et al. (2021) Prevalence and molecular characterization of aminoglycoside resistance genes in *Escherichia coli* isolates from chicken farms in China. **Poultry Science,** v. 100, n. 2, p. 1011-1019.

World Health Organization (WHO). (2019). Critically important antimicrobials for human medicine. 6th revision. Geneva: WHO, 2019.

Zhao, J. et al. (2020). Estudo sobre pontos críticos de controle de contaminação por Salmonella em grandes abatedouros de frangos de corte. **Qualidade e Segurança de Produtos Agropecuários**, (3), 49-54.

Mohamed, M. A. et al. (2008). Avaliação da implementação de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle em abatedouros de aves. Sudan University of Science and Technology.

Izquierdo, J. (2025). Principais estratégias para garantir higiene e segurança alimentar no processamento de carnes e aves. *The National Provisioner*.

Costa, F. N. et al. (2009). Pontos críticos de controle de Salmonella spp. no abate de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 61(2), 326-330.

USDA-FSIS. (1996). Redução de Patógenos; Sistemas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Federal Register.

Hassan, A. H. et al. (2013). Investigação da contaminação bacteriana em carcaças de frango em abatedouro automático no Estado de Cartum. Sudan University of Science and Technology.

Tables:

Tabela 1. Details of the collection points of poultry industry samples

Point of poultry industry	Source	Type of Sample	Number
Reception	Chickens	Cloacal Swabs	30
Pre-slaughter	Birds transport crates	Crate Swabs	30
Processing room	Plucking machines	Equipment surface swabs	30
Evisceration room	Environment	Room surface swabs	30
Cooling	Pre-cooling and cooling tanks	Water (80 mL)	30
Packaging room	Chicken retail cuts	Carcasses and livers	30

Tabela 2. Frequency of Salmonella enterica, Escherichia coli, and Listeria monocytogenes in samples collected from three broiler chicken slaughterhouses

Pathogen	Number of Samples	Positive Samples (n/%)	Sources of Positive Samples*
Salmonella enterica	180	24 (13.3%)	Slaug.A: Pluck; Evisc.; Chick Slaug. B: Cloacal-S; Crate-S; Pluck.; Evisc.; Chick. Slaug. C: Cloacal-S; Crate-S
Escherichia coli	60	22 (36.6%)	Slaug. A: Chick. Slaug. B: Chick. Slaug. C: Chick.
Listeria monocytogenes	60	11 (18.3%)	Slaug. A: Evisc. Slaug. B: Evisc. Slaug. C: Evis; Chick.

*Chick. = Carcasses and livers; Cloacal-S = Cloacal Swabs; Crate-S = Crate Swabs; Evisc. = Evisceration room; Pluck. = Plucking machines' surfaces; Slaug. = slaughterhouses.

Tabela 3. Salmonella enterica serotypes distribution at different processing stages in the three sampling slaughterhouses

Slaughterhouses	Source	Serovar
A	Plucking machines	Adelaide
	Carcasses and livers	Agona
		Senftenberg
B	Crate Swabs	Heidelberg (2)
	Cloacal Swabs	Heidelberg
	Plucking machines	Agona (2)
	Evisceration room surface	Senftenberg
		Agona
	Carcasses and livers	Agona
		Heidelberg
C	Cloacal Swabs	Adelaide
	Crate Swabs	Agona

Tabela 4. Antimicrobial resistance profiles of Salmonella enterica isolates recovered from poultry slaughterhouses

Isolate	AMK	ATM	FEP	CAZ	C/T	CXM	CIP	ETP	GEN	TZP	TGC	Profile
Adelaide-S1	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-I**
Adelaide-S2	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-II**
Agona-S3	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-I**
Agona-S4	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-I**
Agona-S5	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-II**
Agona-S6	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-III**
Agona-S7	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-I**
Agona-S8	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-V**
Heidelberg-S9	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-I**
Heidelberg-S10	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-IV**
Heidelberg-S11	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-I**
Heidelberg-S12	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-V**
Senftenberg-S13	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-I**
Senftenberg-S14	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P-III**

S1-S14 = *Salmonella enterica* isolates 1 to 14; PI-PV = different antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* isolates; S = susceptible; I = intermediate; R = resistant.
AMK = amikacin; ATM = aztreonam; FEP = cefepime; CAZ = ceftazidime; C/T = ceftolozane-tazobactam; CXM = cefuroxime; CIP = ciprofloxacin; ETP = ertapenem; GEN = gentamicin; TZP = piperacillin-tazobactam; TGC = tigecycline.

Tabela 5. Antimicrobial resistance profiles of Escherichia coli serotypes recovered from poultry slaughterhouses

Isolate	AMK	ATM	FEP	CAZ	C/T	CXM	CIP	ETP	GEN	TZP	TGC	Profile
E1	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P1**
E2	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P1**
E3	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**S**	**P2**
E4	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**P3**
E5	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P1**
E6	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**S**	**P2**
E7	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**S**	**P1**
E8*	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**R**	**R**	**S**	**R**	**S**	**S**	**P4**
E9	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**P3**

E1-E9 = *Escherichia coli* isolates 1 to 9; P1-P4 = different antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* isolates; S = susceptible; I = intermediate; R = resistant. AMK = amikacin; ATM = aztreonam; FEP = cefepime; CAZ = ceftazidime; C/T = ceftolozane-tazobactam; CXM = cefuroxime; CIP = ciprofloxacin; ETP = ertapenem; GEN = gentamicin; TZP = piperacillin-tazobactam; TGC = tigecycline.

Conclusão

Os resultados apresentados nesta tese, compilados a partir de três artigos científicos, fornecem uma análise abrangente e integrada dos principais riscos microbiológicos na cadeia de produção avícola brasileira, com implicações diretas para a saúde pública.

- **Superioridade da qPCR:** O método de qPCR demonstrou ser superior à cultura microbiológica convencional para a detecção de *Campylobacter* spp., oferecendo maior rapidez, sensibilidade e capacidade de identificação direta da espécie (*C. jejuni* e *C. coli*) em amostras complexas.
- **Origem e Amplificação da Contaminação:** A contaminação por *Campylobacter* tem origem pré-abate, mas é amplificada e modificada dentro do abatedouro, onde a contaminação cruzada e a persistência ambiental são fatores determinantes.
- **Risco de Linhagens Virulentas:** Foram identificadas, no ambiente dos abatedouros, linhagens de *Campylobacter* portadoras dos genes de virulência cstII e neuA**,** geneticamente relacionadas a cepas clínicas de alto risco, incluindo as associadas à Síndrome de Guillain-Barré.
- **Plasticidade e Co-contaminação:** A detecção de eventos de co-contaminação e possíveis transferências gênicas evidencia a dinâmica evolutiva e a plasticidade genômica do patógeno, aumentando seu potencial de risco.
- **Ameaça da Resistência Antimicrobiana:** A cadeia avícola atua como reservatório e disseminadora de bactérias (*Salmonella* spp. e *E. coli*) com perfis de multirresistência**,** incluindo a classes críticas de antibióticos (como fluoroquinolonas e cefalosporinas).
- **Determinante Operacional:** As diferenças significativas encontradas entre os abatedouros estudados comprovam que os protocolos operacionais, de higienização e biossegurança são fatores cruciais para definir o nível de contaminação microbiológica final.
- **Necessidade de Abordagem Integrada (One Health):** Os resultados reforçam a necessidade urgente de um programa integrado de vigilância, baseado no conceito de **Uma Só Saúde**, que monitore simultaneamente a prevalência de

patógenos, seus genes de virulência e seus perfis de resistência antimicrobiana ao longo de toda a cadeia produtiva.